N° D'ORDRE :
2 E

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

M. René WURMSER
PRÉPARATEUR DE PHYSIOLOGIE GÉNÉRALE

1re THÈSE. — RECHERCHES SUR L'ASSIMILATION CHLOROPHYLLIENNE.

2e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 20 Juin 1921 devant la Commission d'examen

MM. TERROINE, *Président*
DE LAPPARENT, LAGARDE, VLÈS } *Examinateurs*

Thèse Strasbourg

PARIS
LIBRAIRIE SCIENTIFIQUE J. HERMANN
6, RUE DE LA SORBONNE, 6

1921

N° D'ORDRE :
2 E

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

M. René WURMSER
PRÉPARATEUR DE PHYSIOLOGIE GÉNÉRALE

1re **THÈSE.** — Recherches sur l'assimilation chlorophyllienne.

2e **THÈSE.** — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le *1921 devant la Commission d'examen*

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

MM. TERROINE, *Président*
DE LAPPARENT, LAGARDE, VLÈS } *Examinateurs*

PARIS
LIBRAIRIE SCIENTIFIQUE J. HERMANN
6, RUE DE LA SORBONNE, 6

1921

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

Doyen	E. BATAILLON	Professeur de Biologie générale
Professeurs	A. DENJOY	Mathématiques générales.
	G. VALIRON	Calcul différentiel et intégral.
	H. VILLAT	Mécanique.
	M. FRÉCHET	Analyse supérieure.
	E. ESCLANGON	Astronomie.
	P. WEISS	Physique générale.
	H. OLLIVIER	Physique générale.
	E. ROTHÉ	Physique du Globe.
	P. MULLER	Chimie générale et chimie physique.
	L. HACKSPILL	Chimie minérale.
	H. GAULT	Chimie organique.
	E. TOPSENT	Zoologie et Anatomie comparée.
	C. HOUARD	Botanique.
	E. TERROINE	Physiologie générale.
	J. DE LAPPARENT	Pétrographie.
	M. GIGNOUX	Géologie et Paléontologie.
Secretaire	A. RENARD	

INTRODUCTION

Toutes les actions de la lumière sur les êtres vivants : tropismes, réactions cutanées, motrices ou sensorielles, phénomènes abiotiques, sont rapportées par les physiologistes à des processus chimiques. Mais qu'il s'agisse des oxydations imaginées par Loeb (1906) pour la compréhension des tropismes, des réactions auxquelles V. Henri (1912) fait appel pour rendre compte de l'excitabilité des petits organismes sous l'influence des rayons ultra-violets, qu'il s'agisse enfin de la réaction d'où provient la vision (1), en aucun cas on ne peut savoir quels sont les corps chimiques qui interviennent.

Dans l'assimilation chlorophyllienne, la réaction chimique produite par la lumière est également inconnue. Sans doute, on sait écrire dans une équation le bilan des échanges gazeux qui se font entre la plante et l'extérieur sous l'action de la lumière. On sait encore que la présence de chlorophylle est nécessaire pour qu'ait lieu la photosynthèse. Mais on ignore complètement quelle réaction chimique est effectuée par la lumière, et même sur quels corps elle porte. Car il est fort douteux que ce soit le gaz carbonique lui-même qui soit directement réduit par la lumière.

De quels moyens disposons-nous pour découvrir la nature des substances en jeu dans les actions produites par le rayonnement ?

Les corps formés échappent à l'analyse chimique : ils

(1) Le pourpre rétinien se décolore sous l'action de la lumière. Mais ce pigment apparaît seulement dans l'appareil de vision crépusculaire. S'il est un sensibilisateur, on ignore quelle réaction il sensibilise.

n'existent qu'en quantités minimes ou ont une durée éphémère. Ou bien, comme l'oxygène qui se dégage pendant l'assimilation chlorophyllienne, on peut penser qu'ils sont le produit ultime de transformations dont la première, réellement photochimique, nous est inconnue.

Puisque du côté matière, le problème paraît insoluble, on doit chercher à l'étudier du côté rayonnement. Plus exactement, on peut se demander si l'interaction du rayonnement et de la matière n'obéit pas à des lois telles que la connaissance des radiations actives nous renseigne sur les substances réagissantes. Je pense avoir montré, dans le premier chapitre de ce travail, qu'il en est bien ainsi. On est donc en possession d'une méthode qui peut permettre de reprendre l'étude des actions biologiques de la lumière. Je me suis proposé d'appliquer ce procédé d'investigation au cas de l'assimilation chlorophyllienne. Malgré les très nombreuses recherches poursuivies depuis un siècle et demi sur cette question, il en est peu d'aussi obscures. Dans les trente années qui suivirent la découverte de Priestley (1771) presque toutes les données actuellement acquises furent établies par Ingenhousz (1779-1800), par Senebier (1782) et par de Saussure (1804). Puis on n'avança plus que très lentement, si même on avança. Jorgensen et Stiles, dans une étude critique récente (1919) ont incriminé avec raison la manière dont le problème fut presque toujours abordé : ce n'est que dans ces toutes dernières années qu'on paraît avoir cessé de le considérer comme une question de chimie et de physique pures. Des chimistes comme Willstætter et Stoll, des physiologistes comme Blackman et ses collaborateurs ont mis en relief le rôle actif du protoplasme. L'acte essentiel de la photosynthèse s'est trouvé ramené au nombre des réactions que la matière vivante sait accomplir chaque fois que d'autres réactions lui fournissent de l'énergie libre. En cherchant à déterminer les corps sur lesquels agit la lumière au cours de la réduction du gaz carbonique, j'ai été conduit à une conclusion analogue, mais par une voie bien différente et qui permet de saisir le rôle de la chlorophylle et du rayonnement.

Sans doute de nouvelles et difficiles recherches devront encore confirmer l'hypothèse à laquelle j'ai dû m'arrêter. Mais les résultats déjà acquis justifieront, je l'espère, la méthode

d'analyse physique qui a été suivie et qui peut rendre des services dans d'autres domaines de la physiologie.

Je tiens à dire tout ce que je dois à M. Victor Henri. Les méthodes que j'ai adoptées ici sont inspirées directement des recherches que nous avions entreprises ensemble, avant la Guerre. Au laboratoire de Physiologie générale de la Sorbonne où il dirigeait, avec une sorte de foi, un groupe toujours nombreux de chercheurs, j'ai passé des années de travail heureux dont je lui saurai toujours gré. Notre maître Dastre vivait alors. Ses amis, ses élèves ont tout dit de son élégance intellectuelle, de sa clairvoyance, de sa grande bonté. Entre toutes les pertes subies dans les années 1914-1918, la sienne fut une des plus douloureuses, et je garderai toujours son souvenir avec un respect affectueux. Je conserverai également la mémoire de l'intérêt avec lequel le grand biologiste que fut Yves Delage voulut bien suivre mes recherches, et de l'hospitalité qu'il me donna dans cette Station de Roscoff qu'il aimait et dirigeait si ardemment.

Une grande partie de ce travail a été effectuée dans le laboratoire de M. E.-F. Terroine. J'ai largement tenu compte de ses critiques et bénéficié des facilités de toutes sortes qu'il a mises à ma disposition. Je lui en suis infiniment reconnaissant ainsi qu'à MM. J. Duclaux, M. Nicloux et J. Perrin de m'avoir fait profiter des ressources de leurs laboratoires.

Je tiens encore à remercier MM. E. Bauer, C. Sauvageau et F. Vles pour les renseignements très précieux qu'ils m'ont fournis, Mme J. Duclaux et M. L. Forsen pour l'aide qu'ils m'ont donnée au cours de ces recherches et Melle S. Dehorne dont l'obligeance m'a rendu de grands services au laboratoire de Roscoff.

Je dois enfin mes remerciements à M. Bataillon, doyen de la Faculté des Sciences de Strasbourg et au Conseil de cette Faculté : la publication de ce travail étant due pour la plus grande part à l'aide matérielle qu'ils ont bien voulu m'accorder.

CHAPITRE PREMIER

DÉTERMINATION DANS UN MÉLANGE DES CORPS SENSIBLES A LA LUMIÈRE

1. **Matière et rayonnement.** — Nous avons vu dans l'introduction qu'il nous faudrait tout d'abord chercher s'il est possible, autrement que par l'analyse chimique, de repérer, dans un mélange qui se modifie à la lumière, les corps sur lesquels porte l'action du rayonnement. Et nous nous sommes demandé si, entre les radiations qui agissent et la matière qui se transforme, il n'existe pas de relations permettant de découvrir la structure de celle-ci d'après la nature de celles-là. La réponse à cette question ne paraît pas douteuse, d'après les conceptions actuelles. Les travaux les plus récents de Mac Lewis (1919), de Jean Perrin (1918), de Jacques Duclaux (1919) montrent quelles relations étroites unissent le rayonnement et la matière. La fréquence des radiations qui produisent une réaction donnée est, semble-t-il, caractéristique de cette réaction ; la fréquence de la lumière conditionne les valences qu'elle peut rompre. Or il nous est possible de repérer en quelque sorte ces ruptures de valences autrement que par des analyses chimiques. L'absorption de la lumière paraît due aux mêmes électrons superficiels des atomes que ceux qui conditionnent la valence. On doit donc s'attendre à trouver une relation directe entre la fréquence de la lumière active et son absorption par les corps réagissants.

La vérification expérimentale serait simple si les corps n'étaient sensibles qu'à des fréquences comprises entre des limites étroites. On connaîtrait ainsi immédiatement la fréquence active, et l'examen du spectre d'absorption donnerait

une réponse directe à la question posée. En réalité, la recherche des fréquences actives est plus délicate parce que les systèmes photochimiques réagissent à toute une série de radiations, dont il faut découvrir celles qui ont l'activité maxima. Nous devrons donc rappeler les données nécessaires à l'étude des relations entre la vitesse de réaction et la fréquence.

2. **Définition de la susceptibilité photochimique.**— Considérons une couche infiniment mince d'une substance sensible à la lumière et soumise au rayonnement de longueur d'onde λ émis par une source monochromatique. *On admet généralement que la vitesse* $\frac{dc}{dt}$ *de la transformation est proportionnelle à la puissance incidente* P_0 *du rayonnement.* On a donc :

$$\frac{dc}{dt} = \varphi P_0 \qquad (1)$$

La constante de proportionnalité φ est une fonction de la concentration c de la substance réagissante et de λ. Si une transformation évolue suivant une réaction d'ordre n, on aura :

$$\varphi = \sigma c^n \qquad (2) \quad \text{et} \quad \frac{dc}{dt} = \sigma c^n P_0 \qquad (3)$$

La constante σ est ce que nous avons appelé *la susceptibilité photochimique* de la réaction (V. Henri et R. Wurmser, 1913).

3. **La loi qualitative d'absorption photochimique** (Grotthus). — *Relation entre la fréquence active et l'absorption.* — Le problème posé est donc de savoir quelle est la susceptibilité photochimique d'une réaction pour les différentes radiations, et s'il existe une relation entre ses variations et les propriétés absorbantes des corps réagissants.

On ne peut évidemment pas déterminer directement le coefficient σ. En effet, la détermination de vitesse ne peut être effectuée que sur une quantité de substance d'épaisseur finie, à laquelle ne s'applique plus la relation (3), l'absorption de l'énergie ne devant plus être négligée. Les couches successives recevant des puissances P_0, P_1, P_2..., etc..., de plus en plus faibles, σ ne pourra plus être déterminé qu'après une mesure de la constante d'absorption du système (fig. 1).

Avant de calculer la nouvelle relation applicable à une épaisseur finie, remarquons qu'en mesurant deux vitesses v_1 et v_2 d'une réaction pour deux longueurs d'onde λ_1 et λ_2 on peut obtenir des renseignements qualitatifs sur les susceptibilités σ_1 et σ_2. Faisons tomber une certaine puissance de rayonnement de longueur d'onde λ_1 sur une cuve 1 et une même puissance de longueur d'onde λ_2 sur une cuve 2 contenant la même solution sous la même épaisseur que la cuve 1 (fig. II).

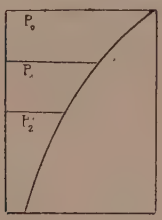


Fig. I.

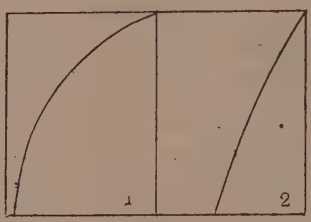


Fig. II.

Une simple observation spectroscopique a montré, par exemple, que la solution exposée absorbe davantage les radiations λ_1 que les radiations λ_2. Dans toute l'épaisseur de la couche 1, les intensités lumineuses sont inférieures aux intensités correspondantes dans la cuve 2. Si donc la susceptibilité σ_1 était égale à la susceptibilité σ_2, on devrait trouver par dosage $v_1 < v_2$. Or, on sait depuis Grotthus (1818) que l'on constate au contraire l'inégalité inverse. Par exemple du chlorure d'or jaune exposé à la lumière du soleil est surtout sensible aux radiations bleues qu'il absorbe, bien que ces radiations soient dans la lumière du soleil moins intenses que les jaunes ; la susceptibilité du chlorure d'or est donc plus grande pour les radiations bleues, qu'il absorbe principalement, que pour les autres radiations.

Ainsi, les régions de grande susceptibilité photochimique sont des régions de grande absorption, *les fréquences chimiquement actives correspondent à des bandes d'absorption*. C'est ce que Grotthus avait exprimé en somme dans la loi connue sous le nom de loi d'absorption photochimique : « ce sont les rayons de couleur complémentaire à la couleur d'un corps qui provoquent des actions chimiques dans ce corps ».

4. Etude quantitative de l'absorption photochimique. — La coïncidence des fréquences actives avec les fréquences correspondant à des bandes d'absorption devait conduire à rechercher si l'intensité de l'absorption n'était pas le facteur déterminant de la sensibilité photochimique, s'il n'existait pas, en d'autres termes, une proportionnalité de la vitesse de transformation à l'énergie de rayonnement absorbée quelle que fut la longueur d'onde de ce rayonnement. S'il en était ainsi, la susceptibilité photochimique serait pour chaque longueur d'onde proportionnelle à la constante d'absorption.

Reprenons en effet le calcul de la susceptibilité σ dans le cas d'une couche d'épaisseur L d'une solution dont la constante d'absorption est K pour la longueur d'onde λ. Remplaçons dans l'équation (3) la puissance P_0 par sa valeur en fonction de la distance l à laquelle une couche d'épaisseur dl est située à partir de la surface libre. On a :

$$\frac{dc}{dt} = \sigma c^n P_0 e^{-Kl}$$

Si la concentration c est la même dans toute l'épaisseur L, on aura, en intégrant pour toute la masse, la vitesse ou quantité de matière transformée dans l'unité de temps :

$$v = \frac{\sigma c^n}{K} P_0 (1 - e^{-KL}).$$

Or $P_0(1 - e^{-KL})$ est l'expression de la puissance absorbée dans la masse d'épaisseur L. On a donc appelant P_a la puissance absorbée :

$$v = \frac{\sigma}{K} c^n P_a. \qquad (4)$$

Pour d'autres longueurs d'onde λ_1, λ_2, ..., on aurait de même :

$$v_1 = \frac{\sigma_1}{K_1} c^n P_{a1}, \qquad v_2 = \frac{\sigma_2}{K_2} c^n P_{a2}, \ldots$$

La proportionnalité à l'énergie absorbée de la vitesse d'une réaction, quand varie la longueur d'onde, impliquerait la relation :

$$\frac{\sigma_1}{K_1} = \frac{\sigma_2}{K_2} = \ldots$$

c'est-à-dire la proportionnalité de la susceptibilité photochimique à la constante d'absorption (Tian, 1915). Nous verrons dans le paragraphe suivant que cette relation n'est qu'exceptionnellement vérifiée, et que d'une manière générale il n'y a pas simple proportionnalité à la puissance absorbée.

On peut encore se demander si l'activité des diverses fréquences absorbées ne varie pas, comme le prévoit Einstein (1913), de façon inversement proportionnelle à la fréquence. Dans cette théorie, qui s'applique en principe au cas idéal d'un gaz dont les molécules se dédoublent suivant une réaction unimoléculaire et réversible, une molécule entre en réaction quand elle a absorbé un quantum d'énergie égal à la valeur $h\nu$, où h est la constante de Planck, soit $6,5.10^{-27}$, et ν la fréquence de la radiation incidente. On aurait alors pour les fréquences $\nu_1, \nu_2, \ldots$

$$r_1 = \frac{P_{a1}}{h\nu_1}, \qquad r_2 = \frac{P_{a2}}{h\nu_2}, \ldots$$

et le rapport $\frac{r}{P_a}$ devrait diminuer proportionnellement à la longueur d'onde. Cette relation n'est vérifiée dans aucune des réactions que nous passerons en revue ; la différence d'activité des radiations, due aux propriétés sélectives des corps réagissants, masque, tout au moins à la précision des expériences, l'effet de fréquence.

3. **Résultats expérimentaux.** — Les recherches expérimentales qui permettent de déterminer comment varie la susceptibilité photochimique en fonction de la longueur d'onde sont extrêmement délicates. Il faut en effet exposer le système réagissant à une série de rayonnements monochromatiques. Quand on a recours à une séparation des différentes longueurs d'onde par dispersion, on obtient difficilement une intensité de rayonnement suffisante pour produire une action chimique mesurable. On doit en général sacrifier la pureté du spectre à la précision de la mesure en utilisant une fente trop large. On a alors avantage à filtrer simplement au moyen d'écrans la région spectrale que l'on veut utiliser. Cependant quand le système photochimique se prête à une mesure très sensible, par des procédés physiques, optiques ou électriques, ou lors-

qu'on a à sa disposition une source de grande puissance, on peut avoir recours à la décomposition spectrale.

A cause de ces difficultés, et malgré le très grand nombre de réactions photochimiques déjà connues, il en existe très peu qui aient été étudiées quantitativement au point de vue des relations entre la susceptibilité photochimique et la longueur d'onde. On doit à L. Lazareff (1907) la mise en évidence quantitative, dans la région visible du spectre, de la proportionnalité de la vitesse de certaines réactions photochimiques à l'énergie absorbée. Les réactions étudiées étaient toutes des décolorations de matières colorantes particulièrement sensibles à la lumière : cyanine, lépidinecyanine, pinacyanol, pinaverdol, quinaldinecyanine et pinachrome. Ces substances, fixées sur des pellicules de collodion, étaient exposées au rayonnement d'un spectre. Leur décoloration était mesurée avec un spectrophotomètre de Koenig-Martens et la répartition de l'énergie de la source, déterminée avec une pile thermoélectrique de Rubens. Il résulte de ces expériences que la susceptibilité varie pour les matières colorantes étudiées, proportionnellement au coefficient d'absorption.

La même conclusion se dégage des travaux de Trendelenburg sur la décoloration du pourpre rétinien exposé au spectre d'une lampe Nernst. V. Henri et J. Larguier des Bancels (1914) ont montré, d'après les chiffres de Trendelenburg et la répartition de l'énergie dans le spectre de la lampe Nernst étudiée par A. Pfluger, que la décomposition du pourpre est proportionnelle à la quantité d'énergie absorbée.

Dans la région ultra-violette du spectre, V. Henri et moi avons étudié plusieurs réactions photochimiques. Sur l'eau oxygénée nous sommes arrivés à la conclusion, qui est également celle de Tian, que la susceptibilité varie proportionnellement à la constante d'absorption. Nous avons pu faire ces recherches avec des rayonnements monochromatiques obtenus par décomposition spectrale, grâce à l'emploi d'une source très puissante d'étincelles. Nous obtenions des régions spectrales très limitées et dont la puissance incidente était de l'ordre de plusieurs milliers d'ergs par centimètre carré et par seconde. Les chiffres suivants résument nos expériences ; les longueurs d'onde sont exprimées en U. A.

TABLEAU I

Longueurs d'onde . . .	gr. 2800	2558	gr. 2300	2100-2060
Constante d'absorption K .	3,0	20	75	127
Susceptibilité photochim. σ.	2,88	18,4	72	112,4

Jusqu'ici la proportionnalité de σ à K s'est trouvée vérifiée quantitativement. Il n'en est pas de même dans les autres réactions photochimiques que nous avons étudiées.

Dans ces expériences, antérieures aux précédentes, la source de rayons ultra-violets était une étincelle condensée entre électrodes de cadmium, dont la puissance était trop faible pour permettre l'emploi des prismes. En combinant d'une façon appropriée des écrans de verre de différentes épaisseurs, de phénylalanine, d'albumine et d'acétone, pour lesquels nous avons mesuré les coefficients de transparence relatifs à chaque raie du cadmium, nous avons pu isoler des régions assez étroites du spectre. Nous avons de plus mesuré l'intensité de chaque raie avec une pile de Rubens placée dans le vide.

Nos recherches ont porté sur l'acétone et l'acétate d'éthyle ; ces corps forment, sous l'action du rayonnement, des acides : nous suivions la marche de la réaction en mesurant les variations de la conductibilité électrique.

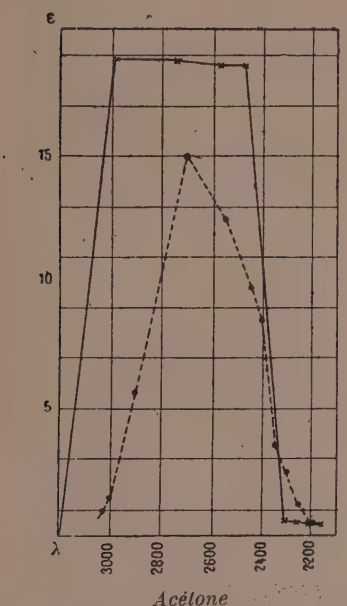
Le tableau II et les courbes (Fig. III et IV) indiquent nos résultats. ε est la constante d'absorption moléculaire.

On voit que la susceptibilité, ici encore, augmente avec l'absorption et décroît avec elle, mais il n'y a plus entre les deux valeurs, une simple relation de proportionnalité. C'est à un résultat du même genre qu'est parvenu M. Boll (1914) dans ses recherches sur l'hydrolyse des acides chloroplatiniques. La susceptibilité augmente encore quand l'absorption augmente, mais plus rapidement, suivant une fonction exponentielle.

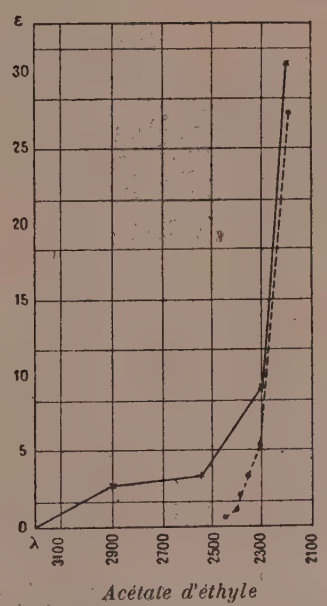
On peut conclure de toutes ces recherches que dans les systèmes photochimiques à une bande d'absorption, la susceptibilité augmente toujours avec la constante d'absorption et décroît avec elle ; la fréquence du maximum de labilité, du système coïncide avec la fréquence des radiations les plus

TABLEAU II

Régions spectrales.	Intensités des raies.	Acétone. Absorption. ε.	Acétone. Susceptib. photochimique. σ.	Acétate d'éthyle. Absorption. ε.	Acétate d'éthyle. Susceptib. photochimique. σ
3600 à 3200	324	< 1	0,1	»	0,7
2980 à 2880	81	10	21	»	10
2748	113				
2572	84	12	20,8	< 0,54	12
2469	28				
2313	753				
2288	199	3	0,6	7	35
2265	199				
2265	199				
2195	339	0,8	0,5	27	116
2144	256				



Acétone



Acétate d'éthyle

Fig. III et IV. — Constantes d'absorption et susceptibilités photochimiques de l'acétone et de l'acétate d'éthyle,
• - - - - - • absorptions ; • ——— • susceptibilités photochimiques.

intensément absorbées. Nous nous en tiendrons à ce résultat qualitatif, la fonction exacte $\frac{\sigma}{K} = f(\nu)$ n'étant jusqu'ici connue que pour des cas particuliers.

Cas des systèmes à plusieurs bandes d'absorption. — On n'a étudié qu'un petit nombre de réactions portant sur des systèmes de ce genre. Nous prendrons comme exemple l'action des rayons ultra-violets sur l'aldéhyde acétique (V. Henri et R. Wurmser, 1913).

L'absorption de l'adéhyde acétique présente un maximum pour $\lambda = 2775$, puis diminue, passe par un minimum et augmente de plus en plus pour les rayons ultra-violets extrêmes. La susceptibilité photochimique passe par un maximum qui coïncide avec le maximum d'absorption, mais pour les rayons ultra-violets très courts la susceptibilité photochimique est très faible, tandis que l'absorption est très forte, ainsi que le montrent le tableau et la figure ci-contre (fig. V).

TABLEAU III

Régions spectrales.	Absorption.	Susceptibilité photochimique.
3600 à 3200	2,8	1,3
2980 à 2880	5,3	79
2748		
2572	3,2	4,2
2469		
2313	1,2	1,7
2288		
2265		3,8
2265	9	
2195		
2144		

On peut donner une explication de cette discordance entre les courbes d'absorption et de susceptibilité photochimique. La mesure de l'absorption des rayons ultra-violets par différents corps organiques (V. Henri et J. Bielecki, 1912), montre que pour l'aldéhyde acétique la bande d'absorption de $\lambda = 2775$

correspond au groupement moléculaire $-C\overset{O}{\underset{H}{<}}$, tandis que l'absorption de l'extrême ultra-violet correspond au groupement moléculaire CH^3.

Or la réaction chimique provoquée par les rayons ultra-violets en présence d'eau se produit sur le groupement aldéhydique $-C\overset{O}{\underset{H}{<}}$, c'est donc seulement l'absorption due à ce groupement qui doit être importante pour la réaction photochimique. L'absorption des rayons ultra-violets extrêmes ne pourra intéresser que les réactions qui se produisent sur les groupements CH^3.

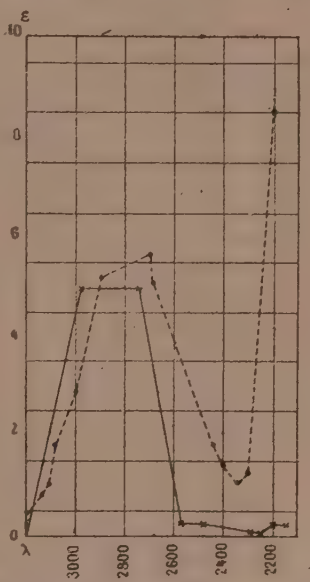


Fig. V. — Constante d'absorption et susceptibilité photochimique de l'aldéhyde acétique.

• - - - - • absorptions ;
• ——— • susceptibilités photochimiques.

Ainsi, d'une part, le spectre d'absorption peut être considéré comme la somme de plusieurs « spectres d'absorption élémentaires » dus aux différents groupements moléculaires qui constituent le corps, d'autre part, l'action photochimique se produit seulement sur certains de ces groupements. On peut énoncer la loi que *la susceptibilité photochimique d'un corps dépend seulement de la partie du spectre d'absorption qui correspond aux mêmes groupements moléculaires que ceux sur lesquels se produit la réaction.*

6. **Recherche des corps photosensibles dans un mélange absorbant.** — L'étude des réactions photochimiques les mieux connues vérifie donc la découverte de Grotthus qu'il existe une relation, plus ou moins simple d'ailleurs, entre la labilité photochimique d'un système et son absorption. Dans un mélange absorbant complexe, on pourra donc savoir quel est le corps, parfois même le groupement moléculaire, sur lequel porte la

réaction. On déterminera le rapport $\frac{v}{P_a}$ de la vitesse à l'énergie absorbée pour différentes longueurs d'onde. D'après ce que nous avons vu, deux cas pourront se présenter :

1° Le rapport $\frac{v}{P_a}$ sera constant, ce qui prouvera que l'absorption est due tout entière au corps réagissant ; car cette constance implique la proportionnalité de σ à K, c'est-à-dire des liaisons (1) qui ne sauraient être réalisées qu'à l'intérieur d'une même molécule. En rapportant les différentes vitesses à la puissance incidente des radiations, on réalisera donc une détermination des pouvoirs absorbants du corps que l'on cherche : on obtiendra en quelque sorte directement un négatif du spectre d'absorption de ce corps.

2° Le rapport $\frac{v}{P_a}$ présentera un maximum. Nous savons que ce maximum correspond généralement au maximum de susceptibilité, et au maximum d'absorption du corps ou du groupement moléculaire qui réagit. On cherchera alors quel est le constituant du système dont le spectre d'absorption répond à cette condition.

Il est clair que les autres constituants pourront quelquefois fonctionner comme des écrans et déplacer le maximum de $\frac{v}{P_a}$ dans un sens qui peut être prévu d'après leur propre spectre d'absorption.

Nous avons donc bien dans l'analyse des relations entre la vitesse de réaction et la fréquence d'une part, entre l'absorption et la fréquence d'autre part, le moyen de pénétrer dans l'intimité des phénomènes photochimiques. Nous pouvons rechercher, d'après le spectre d'absorption, quels sont les corps chimiques qui sont en jeu.

7. **Cas des sensibilisateurs.** — On donne le nom de sensibilisateurs à des substances qui augmentent la sensibilité à la lumière de certaines réactions. Vogel (1873) découvrit que la cyanine, l'éosine, et de nombreux autres colorants accélèrent l'action de la lumière sur les sels d'argent. Et cela pour les radiations qui sont précisément absorbées par le colorant

(1) En effet la labilité et le pouvoir absorbant d'un corps dépendent l'un et l'autre de sa constitution chimique.

(Eder, 1885). On ne sait presque rien sur les sensibilisateurs. D'après Abney (1881), leur propriété serait liée à leur instabilité à la lumière, mais on manque de confirmation quantitative. La dicyanine, par exemple, est extrêmement instable, tandis que le Rose Bengale est stable et est néanmoins un bon sensibilisateur.

Il paraît mieux établi, selon Eder (1906), que le sensibilisateur doit teindre la substance qu'il sensibilise, par exemple, dans les plaques photographiques, le grain d'halogénure d'argent et non simplement la gélatine.

Quoi qu'il en soit, le sensibilisateur se superposant au corps réagissant modifie l'allure de la courbe de susceptibilité et complique la recherche des fréquences actives.

On pourra cependant retrouver dans la courbe complexe, qui résulte de l'addition du sensibilisateur, la courbe de susceptibilité correspondant à la réaction sensibilisée. On remarquera que le sensibilisateur intervient uniquement du fait de son pouvoir absorbant sans quoi il serait un des constituants du système chimique réagissant et ne constituerait plus un *sensibilisateur optique*.

Soit par exemple une substance absorbant dans l'ultraviolet, ayant par conséquent une courbe de susceptibilité SFS′ (fig. VI) dans la région visible du spectre. Si un sensibilisateur intervient, on peut admettre — ce qui rendra compte de son action sélective — qu'il multiplie la susceptibilité photochimique σ correspondant à chaque longueur d'onde par un terme proportionnel à sa propre constante d'absorption pour cette longueur d'onde. On pourra donc retrouver dans la courbe totale STS′ l'élément fondamental SFS′ par des déterminations d'énergie absorbée. Nous verrons dans l'assimilation chlorophyllienne un cas de ce genre.

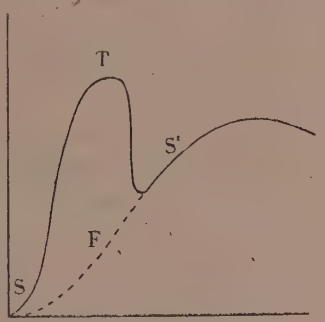


Fig. IV

8. **Application à l'étude des effets biologiques de la lumière.** — Nous sommes désormais en possession d'un pro-

cédé d'analyse pour la recherche de substances dont la sensibilité à la lumière est à la base des effets de phototropisme, de photoexcitabilité, et de photosynthèse. Ce procédé consiste en deux déterminations :

1° Détermination de la courbe de susceptibilité en fonction de la fréquence ;

2° Détermination du spectre d'absorption.

Malheureusement dans la plupart des cas, on n'a pas mesuré quantitativement l'énergie absorbée et toute conclusion est actuellement impossible. C'est ainsi que pour les phototropismes, nous manquons de données suffisantes. D'une manière générale, quand la lumière agit sur du protoplasme incolore dans la région visible du spectre, nous devons nous attendre à une activité croissant avec la fréquence, puisque le maximum doit se trouver quelque part dans l'ultra-violet. Nous avons pu nous-mêmes constater pour l'action de la lumière sur la respiration végétale, que l'activité des radiations était plus grande dans le bleu-violet que dans le reste moins réfrangible du spectre. Nous confirmions ainsi, mais en tenant compte de l'énergie du rayonnement, ce qu'avaient signalé déjà Bonnier et Mangin (1884). Même fait dans l'action de la lumière sur les diastases (1).

On doit évidemment préciser davantage et il n'est pas douteux que l'étude simultanée, dans l'ultra-violet, de la susceptibilité photochimique et de l'absorption peut amener à découvrir les corps sur lesquels le rayonnement agit. Un exemple typique peut être emprunté au travail de Fauré-Frémiet (1913) sur l'œuf d'*Ascaris megalocephala*. Fauré-Frémiet utilisant une technique analogue à celle que nous avons décrite précédemment (§ 3) trouve que le maximum de retard exercé par la lumière sur la vitesse de segmentation de l'œuf est situé entre 2800 et 2500 A. Or les recherches de Bierry, Ranc et V. Henri 1910-1911) et celle de Mme et M. Chauchard (1913) montrent que les radiations agissent plus fortement sur les hydrates de carbone et les diastases à mesure que les longueurs d'onde sont plus courtes. Par contre V. Henri et moi avons signalé (§ 5)

(1) Par exemple, l'amylase du sucre pancréatique n'est attaquée de façon sensible que par les rayons de $\lambda < 2800$ U. A. (Chauchard, 1920).

que le maximum de susceptibilité des corps à doubles liaisons est situé au voisinage de 2800 A. Fauré-Frémiet est ainsi amené à penser que la lumière agit sur les œufs en oxydant les graisses neutres d'une manière qui les rend inutilisables. Toutefois la même région spectrale est encore une zone de maximum pour l'action des rayons ultra-violets sur les matières albuminoïdes. Il se peut aussi que l'effet sélectif des radiations comprises entre 2800 et 2500 A soit dû à l'absorption des radiations plus courtes par les glucosamines de la membrane. Dans ce cas particulier, l'étude seule (1) du rayonnement actif ne peut donc suffire à établir la nature des corps réagissants ; elle n'en fournit pas moins une indication précieuse.

Nous nous proposons de soumettre à la méthode d'analyse qui vient d'être décrite l'assimilation chlorophyllienne. Il ne sera plus question dans la suite de ce travail des autres effets biologiques de la lumière. Aussi tenons-nous à indiquer ici une des plus importantes questions qui se trouvent posées par les considérations précédentes. On sait que la vision diurne présente une sensibilité maxima au voisinage de 550 mμ. Aucun corps présent dans la rétine n'absorbe sélectivement dans cette région. Faut-il y voir l'extrême faiblesse des quantités présentes de ce corps inconnu, ou renoncer à une conception chimique de la vision, comme le proposa, pour d'autres raisons, R. Dubois (1890) ?

En ce qui concerne l'assimilation chlorophyllienne, il convenait de chercher les relations qui existent entre la fréquence de la lumière et son action sur le pigment lui-même d'abord (Chapitre II et III), sur la photosynthèse ensuite (Chapitre IV). Enfin l'étude du cas particulier des Algues Rouges (Chapitre V) nous a paru susceptible de nous renseigner également sur le mécanisme de l'assimilation. Tel est le plan général de notre travail, au cours duquel nous nous appuierons sur les données établies dans ce premier chapitre. Nous nous efforcerons de répondre à la question précise, qui ne semble pas avoir été posée jusqu'ici : sur quel corps agit primitivement la lumière dans le phénomène d'assimilation ?

(1) Fauré-Frémiet a apporté d'autres arguments à l'appui de sa conclusion : notamment le quotient respiratoire, pendant la première mitose et l'examen histologique montrent que ce sont des graisses qui sont brûlées.

CHAPITRE II

PHOTOOXYDATION DE LA CHLOROPHYLLE

9. Chimie de la chlorophylle. — Nous rappellerons brièvement les points essentiels de la chimie de la chlorophylle auxquels il est fait allusion dans la suite de ce travail. Presque toutes ces données, nous les devons à Willstætter et ses collaborateurs (1913). Ils ont montré d'abord l'identité de la chlorophylle sur un très grand nombre de plantes, plus de 200, prises aussi bien parmi les Cryptogames que les Phanérogames, et dans les lieux les plus divers. Ils ont ensuite entrepris l'étude de la constitution chimique de ce pigment.

La chlorophylle, comme l'avait vu Stokes (1864), est un mélange de deux matières colorantes définies, la chlorophylle *a* (vert-bleu) et la chlorophylle *b* (vert-jaune), chimiquement très voisines, mais qu'on peut séparer, grâce à leur adsorbabilité différente par les corps pulvérulents (Tswett, 1906) ou à leur solubilité différente dans l'éther de pétrole et l'alcool méthylique (Willstætter et Hug, 1911).

Ces deux chlorophylles sont des complexes magnésiens triacides. La composition de la chlorophylle *a* répond à la formule :

$$[C^{31}H^{29}N^{3}Mg]\,(NHCO)\,(CO^{2}CH^{3})\,(CO^{2}C^{20}H^{39}).$$

La chlorophylle *b* se distingue par la substitution d'un O à 2 H. On voit que deux des groupements acides sont éthérifiés, l'un par l'alcool méthylique, l'autre par un alcool primaire non saturé le phytol $C^{20}H^{39}OH$ et que le troisième carboxyle forme un sel interne, un lactame.

Sous l'influence d'une diastase, la chlorophyllase qui existe

dans presque tous les végétaux, les chlorophylles en solution alcoolique subissent la substitution du groupe méthyle ou éthyle au phytyle en donnant les chlorophyllides.

$$[C^{32}H^{30}ON^4Mg]\,(CO^2CH^3)\,(CO^2C^{20}H^{39}) + CH^3OH = C^{20}H^{39}OH + [C^{32}H^{30}ON^4Mg]\,(CO^2CH^3)^2$$

$$[C^{32}H^{30}ON^4Mg]\,(CO^2CH^3)\,(CO^2C^{20}H^{39}) + C^2H^5OH = C^{20}H^{39}OH + [C^{32}H^{30}ON^4Mg]\,(CO^2CH^3)\,(CO^2C^2H^5).$$

De là, la nécessité, pour obtenir de la chlorophylle pure :

1° D'éviter les solutions alcooliques ;

2° De s'adresser à des végétaux peu riches en chlorophyllase, par exemple à l'ortie.

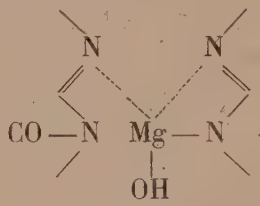
La potasse en solution concentrée dans l'alcool méthylique saponifie les deux groupes éthers de la chlorophylle, avec formation de sels de chlorophylline solubles dans l'eau. Quand on opère cette saponification, on assiste au phénomène de la « phase brune » la couleur verte vire au brun pour la chlorophylle *a*, au rouge pour la chlorophylle *b*, puis au bout de quelques minutes la solution alcaline reprend sa couleur initiale. Selon Willstætter, ce phénomène est dû à l'ouverture du noyau lactame qui se referme ensuite. Quoi qu'il en soit, l'existence de la phase brune permet de contrôler les préparations de chlorophylle. En effet on n'obtient pas cette réaction quand la chlorophylle est allomérisée, modification qui se produit lorsque le pigment séjourne dans l'alcool.

Les alcalis à chaud donnent les diacides, puis les monoacides. Le dernier carboxyle ne peut être séparé que par chauffage avec la chaux sodée. Les dérivés obtenus forment la série des phyllines. Quand on traite la chlorophylle par un acide on lui enlève son magnésium et l'on obtient la phœophytine.

$$[C^{32}H^{32}ON^4]\,(CO^2CH^3)\,(CO^2C^{20}H^{39}).$$

Les phyllines par traitement acide perdent également leur magnésium et donnent ainsi la série des chlorines, rhodines, et des porphyrines, dont le dernier terme est l'æthioporphyrine. On sait (Schunck et Marchlewski, 1896 ; Nencki et Marchlewski, 1901) que l'édifice moléculaire de ces porphyrines est constitué par les mêmes éléments que l'hématoporphyrine. Par réduction

les porphyrines donnent un mélange d'homologues du pyrrol, ce qui prouve que l'æthioporphyrine est constituée par quatre noyaux pyrrol. Comme le magnésium reste dans la molécule de chlorophylle malgré l'action des alcalis à haute température, on est amené à penser qu'il n'est pas lié aux groupements acides, mais précisément aux atomes d'azote des noyaux pyrroliques. Selon Willstætter, le magnésium serait uni aux quatre atomes d'azote. Selon Kuster (1920) cette liaison serait impossible, car s'il existe un azote engagé dans un groupe lactame, il lui manque un atome d'hydrogène remplaçable par Mg ; le magnésium serait lié à trois atomes d'azote seulement, et à deux d'entre eux par des valences accessoires ; la valence disponible pourrait être occupée par un hydroxyle.



Indiquons enfin une dernière propriété des chlorophylles dont nous devrons tenir compte dans la préparation du pigment :

Le fer, le zinc, le cuivre prennent facilement la place du magnésium dans les dérivés de la chlorophylle tels que la phœophorbide, la phytochlorine, la phytorhodine et les diverses porphyrines. Comme des traces de ces métaux suffisent pour opérer la substitution, il est indispensable, pour ne pas introduire de causes d'erreur dans les préparations, d'effectuer toutes les manipulations de broyage et autres en évitant la présence des métaux.

10. **Action de la lumière sur la chlorophylle.** — On sait depuis Senebier (1788) que les solutions de chlorophylle dans l'alcool, l'éther, l'acétone, la benzine, se décolorent rapidement à la lumière en présence de l'air.

Cette destruction de la chlorophylle est, jusqu'ici, la seule transformation, produite par la lumière sur le pigment, que l'on ait pu observer. Il était naturel de penser à une relation entre

cette destruction et la réduction du gaz carbonique par les plantes. C'est ainsi que Wager (1914) admet que le gaz carbonique avant d'être réduit sert à l'édification de la molécule chlorophyllienne. Celle-ci sous l'action de la lumière est oxydée et donne des aldéhydes dont la condensation ultérieure produit le sucre et l'amidon. Plus subtilement, Timiriazeff avait déjà rapproché la décoloration photochimique de la chlorophylle des destructions analogues observées sur les matières colorantes sensibilisatrices étudiées par Abney (1881) ; il s'agirait alors d'une réaction portant sur des quantités minimes.

Le problème que nous nous sommes posé devra donc comporter l'étude de la relation entre les fréquences des radiations actives dans la destruction de la chlorophylle et le spectre d'absorption de ce pigment, puis la comparaison de cette relation avec celle qui existe entre les fréquences actives dans l'assimilation chlorophyllienne et ce même spectre d'absorption. Mais auparavant nous devrons chercher quelle est l'importance du phénomène de destruction de la chlorophylle par la lumière et quels sont les facteurs qui le conditionnent.

11. Etat colloïdal de la chlorophylle dans les leucites. — Si, dissoute dans les solvants neutres, et chez certains végétaux exposés à des lumières intenses on observe une destruction rapide du pigment, dans la plupart des végétaux, la chlorophylle présente, au contraire, une stabilité remarquable. D'après Wiesner (1874) cette stabilité serait apparente ; la destruction serait compensée par une production de nouveau pigment. Cette hypothèse classique a été soutenue par G.-G. Stokes (1892), W. Pfeffer (1897), H. Wager (1914). Elle s'appuie sur les observations de W.-N. Lubimenko (1908) et A.-J. Ewart (1895-1897). Mais les récentes mesures de R. Willstætter et A. Stoll (1918) montrent que la teneur des feuilles en chlorophylle ne varie pas après une irradiation intense et que la destruction doit être par conséquent très faible. D'autre part, la vitesse de formation du pigment devrait être considérable, pour compenser la destruction, si celle-ci était aussi intense qu'on l'observe dans les solutions. On a donc cherché à expliquer la résistance particulière du pigment dans les feuilles ; Wiesner lui-même, par la haute concentration de

la chlorophylle ; J. Reinke (1886), par la formation d'un complexe avec les matières protéiques, enfin, D. Iwanowski (1913) par l'état colloïdal du pigment.

L'état colloïdal de la chlorophylle dans les leucites paraît en effet démontré par la comparaison des spectres. On savait depuis Hagenbach (1870) que le spectre des feuilles vivantes diffère de celui des solutions de chlorophylle. Les bandes sont déplacées vers les grandes longueurs d'onde d'environ 10 mμ. Quand on dilue (Willstætter, 1906) avec de l'eau une solution concentrée de chlorophylle dans l'alcool ou l'acétone, on obtient une solution colloïdale de chlorophylle (1) dont le spectre présente avec celui des feuilles une étroite analogie (D. Iwanowski, 1908 et 1913, A. Herlitska, 1912).

Les solutions colloïdales présentent à la lumière une résistance beaucoup plus grande que les solutions vraies, ainsi que l'avait remarqué Iwanowski. Cependant elles sont encore beaucoup plus sensibles à la lumière que la chlorophylle dans les feuilles de la plupart des végétaux. C'est pourquoi j'ai cherché s'il n'était pas possible d'augmenter la stabilité du pigment en se rapprochant des conditions où il se trouve dans la nature. En ajoutant certains colloïdes aux hydrosols de chlorophylle peut-on leur confèrer une résistance à la photooxydation du même ordre que celle de la chlorophylle dans les feuilles ?

12. Préparation de chlorophylle pure. — Nous avons préparé nos solutions à partir de chlorophylle isolée suivant la technique de Willstætter et Stoll (1913). Nous avons opéré sur des feuilles d'Ortie qui conviennent bien à cause de leur pauvreté en chlorophyllase. Le solvant de choix est l'acétone à 85 0/0. L'acétone a en outre l'avantage de ne pas allomériser la chlorophylle.

1° 2 kg. 500 de feuilles fraîches sont broyées dans un gros mortier de porcelaine. La pulpe est mise dans un cristallisoir et immédiatement arrosée puis agitée avec 1,5 l. d'acétone pure (sans eau). On filtre à la trompe sur entonnoir de Buchner en comprimant légèrement la pulpe. Le filtratum est jeté. Cette

(1) Ces solutions constituent un colloïde électronégatif, facilement précipitable par les électrolytes.

préextraction a pour effet d'entraîner la plus grande partie de l'eau contenue dans la pulpe et d'éliminer les substances mucilagineuses.

2° On reprend alors le contenu du filtre et on le traite par 1,2 l. d'acétone pure. L'eau que contient encore la pulpe ramène à 80 0/0 environ le titre du solvant, qui commence à s'emparer de la chlorophylle. On reprend le résidu par 1 litre d'acétone à 80 0/0. On filtre et on lave avec 2 litres du solvant à 80 0/0.

3° La totalité du liquide filtré (4 litres environ) est agitée dans un entonnoir à décantation avec 1,5 litre d'éther de pétrole (à 35°-40°). Il faut éviter l'émulsion pour que la couche d'éther se sépare nettement : elle présente une belle fluorescence. On élimine la couche inférieure d'acétone très faiblement colorée. On lave ensuite l'éther de pétrole avec 1,5 litre d'acétone à 80 0/0, puis deux fois avec 1/2 litre d'eau pour éliminer l'acétone.

4° On extrait la xanthophylle en traitant l'éther de pétrole par deux fois 500 cc. d'alcool méthylique à 80 0/0. On sépare cet alcool méthylique, et on lave cinq fois avec 2 litres d'eau.

5° On ajoute 30 gr. de sulfate de soude anhydre et 50 gr. de talc qui rassemble la suspension de chlorophylle. On filtre et on lave avec de l'éther de pétrole qui entraîne la carotine.

6° On extrait la chlorophylle fixée sur le talc en lavant le contenu du filtre avec 1 litre d'éther. On distille l'éther dans le vide et on précipite la chlorophylle par l'éther de pétrole. On filtre et on dessèche.

On obtient ainsi 3 à 4 gr. d'un mélange des deux chlorophylles *a* et *b*, sous forme d'une poudre bleu foncé presque noir, d'un aspect métallique. Ce produit présente les propriétés de la chlorophylle pure :

1° L'examen spectroscopisque en solution acétonique montre les bandes caractéristiques ; la phæophytine se révélerait par l'apparition de deux bandes au voisinage de 500 et 530 mμ.

2° Avec la potasse méthylalcoolique, la solution éthérique donne la phase brune (absence d'allomérisation). En ajoutant lentement de l'eau, l'éther reste incolore (absence de pigments jaunes).

3° L'acide chlorhydrique à 22 0/0 n'extrait rien de la solution éthérique (absence de chlorophyllide).

13. **Marche des expériences.** — La destruction des solutions colloïdales était mesurée avec un spectro-photomètre de Hufner, pour la longueur d'onde $\lambda = 680$ mμ correspondant au maximum d'absorption. Les préparations étaient soumises au rayonnement d'une lampe 1/2 watt, 200 bougies. L'exposition se faisait dans des tubes de 12 mm. de diamètre, placés à 15 cm. de la source, et maintenus à la température de 20°. Des tubes témoins enveloppés de papier noir permettaient de s'assurer que l'évolution à l'obscurité était négligeable relativement à la réaction photochimique étudiée. Au bout de deux jours, durée d'exposition moyenne, les tubes conservés à l'obscurité ne présentaient pas de variation mesurable de l'absorption.

14. **Action de la gélatine.** — Une solution colloïdale de chlorophylle à 0,015 gr. 0/0 est additionnée de quantités croissantes de gélatine. Les expériences sont faites dans de petits tubes de verre contenant chacun 6 cc. de la solution colloïdale ; on ajoute dans chacun d'eux un certain nombre de gouttes d'une solution de gélatine à 2 0/0. Le dernier tube est maintenu à l'obscurité dans un thermostat à 20°.

TABLEAU IV

Nombre des gouttes.	Gélatine en °/₀.	Vitesses de décoloration.			
		Exp. I	Exp. II	Exp. III	Exp. IV
0	0	116	115	114	115
1	0,013	103	107	100	98
2	0,026	80	81	82	79
5	0,064	32	35	34	32
10	0,125	12	10	11	12
20	0,260	2	3	2	2
0	0	0	0	0	0

La figure VII représente la marche d'une de ces expériences. En ordonnées sont portées les valeurs de la constante d'absorption, en abscisses le nombre de jours d'exposition à la lumière. Les vitesses du tableau précédent sont mesurées d'après ces

courbes. On devait se demander s'il n'y avait pas une simple diffusion de la lumière et si la gélatine n'agissait pas comme un écran. Nous avons donc exposé des solutions colloïdales de chlorophylle, comparativement, à travers un écran d'eau distillée de 2 cm., et un écran de gélatine à 2 0/0 de même épaisseur. Le résultat a mis en évidence une diminution infime de la vitesse de destruction derrière l'écran de gélatine :

TABLEAU V

Nos des expériences.	Ecran d'eau distillée.	Ecran de gélatine.
1	100	90
2	100	95
3	100	89
4	100	91

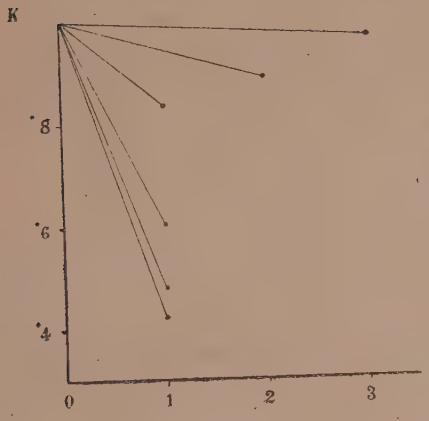


Fig. VII.

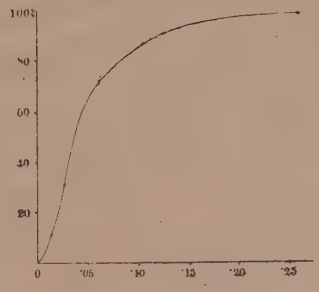


Fig. VIII.

La diminution de vitesse est d'environ 10 0/0, alors que l'addition de 0,05 0/0 de gélatine à la chlorophylle diminue d'environ 50 0/0 sa vitesse de destruction. Portant en effet en abscisses les concentrations de gélatine et en ordonnées les diminutions en 0/0 de la vitesse de destruction de la chloro-

phylle, on obtient la courbe représentée dans la figure VIII et qui correspond à l'expérience I du tableau IV.

Concentration en gélatine. . .	0	0,013	0,026	0,064	0,125	0,260
Diminution de vitesse . . .	0	11	31	72	90	98

L'addition de gélatine protège donc les hydrosols de chlorophylle contre l'action de la lumière.

15. **Action d'autres colloïdes.** — J'ai alors étudié l'action d'un certain nombre d'autres colloïdes sur la photooxydation de la chlorophylle. Les substances essayées ont été la caséine, l'albumine d'œuf, la gomme arabique, et l'amidon. Pour pouvoir comparer entre eux les colloïdes, j'ai cherché la concentration de chacun d'eux nécessaire pour diminuer de 50 0/0 la vitesse de photooxydation d'une même solution colloïdale de chlorophylle. Le tableau VI indique les résultats :

TABLEAU VI

Caséine.		Albumine.		Gomme.	
Concentration.	Réduction de vitesse.	Concentration.	Réduction de vitesse.	Concentration.	Réduction de vitesse.
0,004	2	—	—	—	—
0,005	4	—	—	—	—
0,010	9	—	—	—	—
0,020	22	—	—	—	—
0,030	30	—	—	—	—
0,040	42	0,040	2	—	—
0,050	50	—	—	—	—
		0,086	5	—	—
		0,172	11	—	—
		—	—	0,29	10
		0,344	21	—	—
		0,516	33	—	—
		0,588	40	0,58	20
		0,860	50	0,88	31
				1,16	42
				1,45	50

De l'amidon à la concentration de 2 0/0 n'a permis de déceler aucune réduction de vitesse.

On trouve donc que les colloïdes se classent dans l'ordre suivant d'après leur pouvoir de protection :

Gélatine diminuant la photooxydation de 50 0/0, à la concentration de 0,05 0/0 ;

Caséine diminuant la photooxydation de 50 0/0, à la concentration de 0,05 0/0 ;

Albumine diminuant la photooxydation de 50 0/0, à la concentration de 0,86 0/0 ;

Gomme arabique diminuant la photooxydation de 50 0/0, à la concentration de 1,45 0/0.

Amidon, sans action notable, à la concentration de 2 0/0.

16. **Mécanisme de l'effet protecteur.** — Les colloïdes dont nous venons de mettre en évidence l'effet protecteur vis-à-vis de la photooxydation de la chlorophylle sont des colloïdes stabilisateurs ; ajoutés à des hydrosols instables tels que des solutions d'or, ils leur confèrent une certaine résistance à la précipitation par des électrolytes. ZSIGMONDY (1917) a affecté chacun de ces colloïdes d'un nombre qu'il a appelé « nombre d'or ». C'est le nombre maximum de milligrammes de colloïde protecteur que l'on peut ajouter à 10 cc. de solution d'or sans empêcher le virage du rouge foncé au violet quand on ajoute 1 cc. de NaCl à 10 0/0.

L'ordre dans lequel se placent les colloïdes suivant leur nombre d'or est le même que celui dans lequel ils se placent suivant leur effet protecteur vis-à-vis de la photooxydation de la chlorophylle :

TABLEAU VII

	Gélatine.	Caséine.	Albumine.	Gomme.	Amidon.
Nombre d'or (d'après ZSIGMONDY)	0,005-0,01	0,01	—	0,15-0,25	25
Concentration réduisant la vitesse de photooxydation de 50 0/0	0,05	0,05	0,86	1,45	—

Il semble que les actions protectrices contre la photooxydation et contre la précipitabilité soient dues au même mécanisme ; les colloïdes stables enrobent vraisemblablement le granule qu'ils protègent, sans doute à cause de leur adhésivité. Dans le cas de la précipitabilité, on conçoit que la couche ainsi formée empêche les électrolytes de venir au contact des granules. En ce qui concerne la décoloration par la lumière, on est amené à penser que c'est l'oxygène, nécessaire à la destruction du pigment, qui est arrêté par la couche superficielle.

17. Action de l'oxygène sur la décoloration de la chlorophylle. — On sait depuis longtemps que la décoloration de la chlorophylle exposée à la lumière est due à une oxydation. Gerland (1871) et de nombreux auteurs, après lui, ont vu que plus le solvant peut absorber d'oxygène, plus la destruction de la chlorophylle est rapide. Pringsheim (1881) a mis en évidence le même phénomène dans les cellules des plantes, en montrant que dans une atmosphère de CO^2 la décoloration ne se produit plus.

Nous avons vérifié cette influence de l'oxygène. On remplit un tube à essai d'une solution acétonique concentrée de chlorophylle et on la renverse sur du mercure. On expose à la lumière et on constate, même si on a pris soin d'éviter les moindres bulles d'air, une destruction plus ou moins importante du pigment. La réaction s'arrête bientôt, lorsque l'oxygène dissout dans l'acétone est épuisé. Si on fait pénétrer alors, sous le mercure, une trace de chlorophylle dans la solution, celle-ci redevient verte et peut être exposée plusieurs semaines au soleil sans présenter d'altération.

Nous avons exposé à la lumière, comparativement, des préparations colloïdales de chlorophylle, les unes dans un tube fermé à la lampe, les autres dans un tube fermé après avoir été vidé à la trompe : le tube vide d'air après quatre mois d'exposition était inaltéré, le tube témoin était décoloré le deuxième jour.

Il n'est donc pas douteux que l'oxygène est nécessaire pour la décoloration de la chlorophylle ; peut être, comme l'ont soutenu F. L. Usher et J. H. Priestley (1911), par suite de la formation de peroxyde d'hydrogène en présence d'eau. Il restait à prouver

que la protection par les colloïdes tels que la gélatine n'était pas due à une autre cause que l'arrêt, en quelque sorte mécanique, de l'oxygène. Pour le montrer nous avons préparé des pellicules de collodion sur lesquelles de la chlorophylle colloïdale était adsorbée. Ces pellicules étaient obtenues en versant dans un manchon de collodion une solution colloïdale de chlorophylle. Après lavage on découpait le manchon en fragments qui étaient exposés les uns dans une cuve à faces parallèles remplie d'eau, les autres dans une cuve identique contenant une solution de gélatine à 2 0/0. Pour éviter les erreurs provenant de la perte par diffusion, on plaçait devant la cuve d'eau une autre cuve de gélatine.

Les fragments plongés dans la gélatine se comportaient vis-à-vis de ceux qui étaient dans l'eau distillée comme les solutions colloïdales de chlorophylle gélatinée vis-à-vis des solutions pures : après 20 heures d'exposition la décoloration dans l'eau était de 50 0/0 ; dans le même temps la décoloration dans la gélatine était si minime que l'absorption de la pellicule, au spectrophotomètre, ne présentait encore aucune variation appréciable.

18. **Protection de la chlorophylle contre les acides.** — Ces mêmes colloïdes qui protègent la chlorophylle contre l'action de la lumière exercent également une action protectrice vis-à-vis des acides. Willstætter et Stoll (1918) avaient déjà constaté que la gélatine ajoutée à une solution colloïdale de chlorophylle confère à cette solution une certaine stabilité vis-à-vis du gaz carbonique. On sait que les acides déplacent le magnésium, en particulier en présence de CO^2 il se forme de la phœophytine et du carbonate de magnésium

$$C^{55}H^{72}O^5N^4Mg + CO^2 + H^2O = MgCO^3 + C^{55}H^{74}O^5N^4.$$

Cette réaction est précédée par la formation d'un composé d'addition de CO^2 avec la chlorophylle. Or Willstætter et Stoll avaient montré que l'action protectrice de la gélatine reposait sur l'empêchement de la formation de ce produit d'addition. A la suite des expériences précédentes il était naturel de penser que la gélatine ne devait pas être le seul colloïde capable d'empêcher le déplacement du magnésium et que d'autre part

il devait en être de même quel que soit l'acide. C'est ce que les expériences suivantes ont vérifié.

Une quantité fixe d'acide est ajoutée à une solution colloïdale contenant une proportion croissante de gélatine ou de gomme arabique. La concentration en ions H indiquée est la valeur calculée d'après la quantité d'acide ajoutée. La teneur en phœophytine est dosée colorimétriquement au bout d'un temps donné, variant de 1 à 2 heures suivant les expériences.

TABLEAU VIII

Gélatine.	*Acide oxalique.*				$C_H = 4,10^{-3}$
Concentration en gélatine :	0,8	2,4	4,0	6,4	8,0
Teneur en phœophytine :	100	100	60	traces.	0

Gomme arabique.	*Acide oxalique.*				$C_H = 4,10^{-3}$
Concentration en gomme :	0,8	2,4	3,2	6,4	8,0
Teneur en phœophytine :	100	100	60	traces.	0

Gomme arabique.	*Acide chlorhydrique.*				$C_H = 5,10^{-3}$
Concentration en gomme :	0,04	0,2	0,4	1	
Teneur en phœophytine.	48	25	11	3	

On voit que la formation de phœophytine est fortement ralentie par l'addition de gélatine et de gomme arabique aux solutions de chlorophylle.

19. **Protection de la chlorophylle dans les leucites.** — Ainsi, l'addition aux solutions colloïdales de chlorophylle de colloïdes tels que la gélatine, la gomme, etc..., leur confère une triple stabilité :

1° Vis-à-vis de la précipitation par les électrolytes ;

2° Vis-à-vis de l'oxydation par la lumière ;

3° Vis-à-vis de l'action des acides.

Or la masse protoplasmique des cellules végétales est un mélange de colloïdes, hydrates de carbone constitués surtout par des pentosanes, et matières albuminoïdes (Mac Dougal et Spœhr, 1920). Quant aux leucites mêmes où se trouve la chlorophylle, c'est encore un mélange d'hydrocolloïdes qui forment leur stroma, et on peut considérer en définitive le leucite comme constitué par un mélange homogène (E. Liebaldt, 1913) de ces hydrocolloïdes et de la chlorophylle colloïdale (1).

Il n'est donc pas douteux que la chlorophylle se trouve dans les leucites précisément dans les mêmes conditions que dans nos solutions artificiellement stabilisées. Nos expériences, la relation trouvée avec le nombre d'or de Zsigmondy, prouvent que l'effet protecteur n'est pas spécifique de telle ou telle substance, mais constitue une propriété générale de tous les colloïdes du groupe de la gélatine. Ces colloïdes, dont les grains sont petits, enrobent les granules chlorophylliens. Le complexe formé acquiert vis-à-vis des électrolytes la stabilité de sa gaine extérieure. C'est encore cette gaine qui abaisse la concentration des ions H, soit par fixation chimique, soit par adsorption. Enfin les molécules d'oxygène dissoutes dans le liquide intergranulaire ne peuvent plus atteindre le noyau chlorophyllien que par les interstices laissés libres entre les molécules de l'enveloppe : d'où la protection contre la photooxydation. On conçoit donc les particularités de la chlorophylle dans les leucites :

1° Son état colloïdal malgré la présence des électrolytes dans le suc cellulaire.

2° Sa résistance à l'acidité du suc cellulaire et du gaz carbonique.

3° Sa stabilité à la lumière.

Sur ce dernier point, il faut remarquer que l'inégale stabilité

(1) Dans certains chloroplastes (*Selaginella Martensii, S. Kraussiana, Chlorophytum elatum*) dont le diamètre atteint 0,02 mm. Priestley et Irving (1907) ont signalé que la chlorophylle était accumulée à la périphérie du chloroplaste. Mais l'anneau vert périphérique qui apparaît quand on fait une section de ces leucites paraît lui-même homogène ; seule la disposition morphologique des colloïdes aurait un caractère particulier.

à la lumière que l'on constate chez les différents végétaux confirme l'idée que nous nous sommes faite du mécanisme de protection. On doit s'attendre à une diminution de la stabilité quand diminue la concentration des colloïdes protecteurs ; autrement dit, quand augmente la teneur en eau des cellules.

Or il résulte des observations recueillies par Stahl (1909) que les leucites qui se décolorent le plus rapidement à la lumière sont ceux des végétaux aquatiques, supérieurs et inférieurs, et des plantes grasses, riches en eau (M. Aubert, 1892). D'autres facteurs évidemment doivent intervenir secondairement ; par exemple la teneur en sels qui abaissent la solubilité des gaz, l'épaisseur des tissus, etc.

20. Sur le mécanisme de l'assimilation. — Les faits qui viennent d'être exposés sont susceptibles de nous renseigner sur le mécanisme de l'assimilation. Si nous admettons que la stabilité de la chlorophylle est conditionnée dans la nature par la présence des colloïdes qui lui sont associés, et que le facteur qui règle l'action de la lumière est l'arrivée de l'oxygène au contact des granules, nous devons conclure : l'oxygène dégagé pendant la photosynthèse ne prend pas naissance au niveau du pigment ; sans quoi ce pigment serait rapidement détruit. Pringsheim (1887) avait été amené par des considérations bien différentes à se poser la question du lieu d'origine de l'oxygène dans l'assimilation. Observant au microscope ce qui se passe dans des cellules de *Chara* exposées à la lumière dans un courant d'hydrogène et de gaz carbonique extrêmement pauvre en oxygène, il avait constaté que les mouvements du protoplasme cessaient au bout d'un temps plus ou moins long, tout comme si ces cellules avaient été maintenues à l'obscurité. Elles étaient selon Pringsheim en état d'inanition par suite du manque d'oxygène nécessaire à leur respiration. Or l'appareil assimilateur ne semblait pas endommagé, car une trace d'oxygène suffisait à rétablir la marche de la photosynthèse et les mouvements protoplasmiques. Comment donc comprendre que l'oxygène dégagé par l'assimilation ne parvenait pas à entretenir la respiration des cellules ? Pringsheim émit l'hypothèse suivante : au cours de la décomposition du gaz carbonique dans la plante il ne se forme pas d'oxygène, ni aucun corps

ayant les propriétés connues de l'oxygène actif ou inactif qui soit en l'état de remplacer à l'intérieur des cellules l'oxygène qu'elles tirent du milieu extérieur pour assurer leur respiration. Il admit qu'il y a formation dans les cellules d'un corps intermédiaire, qui se disperse par osmose et se décompose à la surface extérieure en dégageant de l'oxygène. L'existence de ce corps hypothétique paraît bien peu vraisemblable. On sait que les tissus en général possèdent un pouvoir réducteur énergique qu'Ehrlich (1885) notamment a mis en évidence en injectant des matières colorantes réductibles. Il est difficile d'imaginer qu'un corps assez instable pour libérer son oxygène à la surface put échapper à la réduction. D'autre part Willstætter et Stoll (1918) ont montré que dans les expériences de Pringsheim et dans celles de Ewart (1896-1897) qui les a confirmées, l'hydrogène devrait être remplacé par de l'azote, ce gaz endommageant moins les cellules. Enfin on pouvait objecter aux déductions de Pringsheim que la très faible tension partielle de l'oxygène empêche les combustions d'avoir lieu ; car on conçoit que pour être utilisé dans la respiration ce gaz doit se combiner à quelque substance, et que sa pression doit être supérieure ou égale à la tension de dissociation de la combinaison formée ; d'où une sorte de seuil qui pouvait n'être pas franchi si l'oxygène produit par l'assimilation dans les expériences de Pringsheim diffusait assez vite dans le courant gazeux.

Pour d'autres raisons donc que celles de Pringsheim, nous pensons que l'oxygène dégagé par les plantes vertes n'a pas son origine au contact même des granules. Il est intéressant de remarquer que cette conclusion est conforme aux résultats obtenus dans ces dernières années par les physiologistes de l'Ecole anglaise, et par Willstætter et Stoll. Dans une communication récente, Blackman (1920) a résumé les raisons qui ont déplacé l'intérêt, dans les recherches sur la photosynthèse, de la chlorophylle vers le protoplasme :

1° Le coefficient de température de l'assimilation chlorophyllienne n'est pas celui d'une réaction photochimique mais d'une réaction sombre.

2° Willsttæter et Stoll (1918) ont déterminé les activités photosynthétiques de feuilles de diverses variétés (vertes et jaunes) et à différents états de développement. Les « nombres

d'assimilation » c'est-à-dire les quantités de gaz carbonique assimilé en 1 heure par un gramme de chlorophylle sont extrêmement variables, ce qui a conduit Willstætter et Stoll à penser que la photosynthèse ne dépend pas seulement du pigment mais d'un autre facteur de nature diastasique.

3° Au début de leur développement les feuilles passent par un stade durant lequel, bien qu'ayant déjà une certaine quantité de chlorophylle leur fonction assimilatrice n'est pas établie (Irving, 1910). Il existe selon Briggs (1920) un facteur interne qui augmente rapidement avec l'âge, jour par jour, que la feuille soit à la lumière ou à l'obscurité et qu'il y ait ou non augmentation concomitante de la teneur en chlorophylle.

4° Le pouvoir de réduire le gaz carbonique pour former de la matière organique ne se rencontre pas exclusivement chez les végétaux verts. Certains organismes inférieurs peuvent utiliser pour cette chemo-synthèse l'énergie de l'oxydation de diverses substances.

Nous ajouterons à ces faits rappelés par Blackman, le résultat obtenu par Osterhout et Haas (1918). Ces auteurs, étudiant la marche de la photosynthèse, ont observé que sa vitesse augmente à partir du début de l'irradiation jusqu'à une certaine valeur à laquelle elle se maintient ensuite. Ils concluent à l'existence d'une série de réactions intermédiaires. La cinétique de l'assimilation chlorophyllienne, conduit donc au même résultat que l'étude des divers facteurs qui influent sur son activité.

Tout nous conduit à nous représenter le processus de la photosynthèse de la manière suivante.

La réduction du gaz carbonique a lieu dans le protoplasme, vraisemblablement à la périphérie des leucites où se fait le ravitaillement en gaz.

Cette réduction se fait avec absorption d'énergie aux dépens d'autres réactions, qui sont vraisemblablement des oxydations. Dans le cas de la photosynthèse une première transformation a lieu au niveau des granules chlorophylliens. Cette réaction qui porte sur un corps A encore inconnu se faitsuivant le schéma :

$$A + \text{lumière} \longrightarrow A' - X \text{ cal.} \qquad (I)$$

Le produit A′ de la réaction (I) diffuse dans le stroma et y subit une nouvelle transformation qui régénère par exemple le corps A avec dégagement d'énergie :

$$A' \longrightarrow A + X' \text{ cal.} \qquad \text{(II)}$$

C'est l'énergie libérée par cette deuxième réaction qui rend possible la réduction :

$$\left.\begin{array}{l} CO^2 \longrightarrow C + O^2 - 94.300 \text{ cal.} \\ \text{ou :} \quad CO^2 + H^2O \longrightarrow CH^2O + O^2 - 127.200 \text{ cal.} \end{array}\right\} \qquad \text{(III)}$$

ou telle autre.

Nous nous efforcerons dans le chapitre IV de préciser la nature de ces réactions.

CHAPITRE III

ACTION DES RADIATIONS DE DIFFÉRENTES LONGUEURS D'ONDE SUR LA CHLOROPHYLLE

21. Travaux antérieurs. — De nombreuses recherches ont été effectuées sur cette question, mais les résultats en sont jusqu'ici contradictoires, tant pour des raisons de technique que pour des raisons de calcul ; les vitesses de la réaction n'ayant pas été rapportées aux quantités d'énergie lumineuse qui la déterminent.

Sachs (1864) faisait agir sur une solution brute de chlorophylle la lumière du soleil filtrée tantôt par une couche d'eau, tantôt par une couche de bichromate de potassium ou d'oxyde de cuivre ammoniacal. Il observa une décomposition plus rapide à la lumière rouge-jaune qu'à la lumière bleue. Ces résultats qualitatifs sont en contradiction avec ceux de Gerland (1871). Cet auteur qui opérait en exposant des solutions alcooliques de chlorophylle ou du papier teint, à de la lumière filtrée par des verres colorés, observa une décoloration pour toutes les couleurs absorbées par la chlorophylle et plus rapide pour le bleu que pour le rouge. Wiesner (1874) chercha à apporter plus de précisions en choisissant des écrans tels que la lumière émergeant de chacun d'eux eût la même intensité. Mais cette intensité déterminée optiquement ne présente en fait aucun intérêt, l'intensité lumineuse étant une fonction de la sensibilité de la rétine aux différentes longueurs d'onde, et Wiesner concluait que les rayons les plus actifs au point de vue de la décoloration de la chlorophylle étaient les rayons jaunes, qui ne sont pas les plus absorbés par cette substance.

Dementiew (1876) apporta à son tour des résultats contradictoires. De ses expériences, pratiquées également avec des solu-

tions absorbantes, il concluait que les rayons les plus actifs étaient les rouges-jaunes, puis les verts et que les moins actifs étaient les rayons bleus.

La question fut reprise par J. Reinke en 1885 dans un travail très important, et traitée de façon quantitative. Reinke utilisait une série de lentilles cylindriques dont la largeur variait avec la dispersion et qui couvraient le spectre issu d'un prisme. Ces lentilles fournissaient pour chaque région spectrale dont elles recevaient les rayons une bande lumineuse. L'ensemble des bandes constituait un spectre où les intensités relatives étaient comparables à celles d'un spectre normal, mais très supérieures à celles qu'on aurait obtenu avec un réseau. La destruction de la chlorophylle en solution dans le benzène était suivie au spectrophotomètre. Reinke concluait de ses expériences que les rayons les plus actifs étaient les plus absorbés, c'est-à-dire les rayons rouges et violets.

N. Pringsheim (1881) au cours d'expériences faites en lumière intense sur des végétaux vivants est arrivé à des résultats opposés. Des filaments d'algues étaient exposés dans une cellule renfermant de l'air ou un gaz déterminé. Cette cellule placée sous un microscope recevait la lumière d'un héliostat à travers une solution absorbante. La solution absorbante était pour filtrer le rouge, une solution d'iode dans le sulfure de carbone ; pour le jaune, du bichromate de potassium ; pour le vert, du chlorure de cuivre ; pour le bleu du sulfate de cuivre ammoniacal. La région du spectre solaire comprise entre 500 mμ et 400 mμ, c'est-à-dire l'extrémité bleu-violet du spectre produit sur *Spirogyra crassa*, en 5 minutes, la décoloration complète des bandes de chlorophylle et la mort de la cellule. Au contraire la région rouge du spectre, comprise entre 750 mμ et 610 mμ, en 7 minutes, ne produit aucune action apparente. Sur *Spirogyra jugalis*, une exposition de 5 minutes aux rayons jaunes, bleus, et verts, compris entre 600 mμ et 450 mμ décolore complètement les bandes de chlorophylle et amène la mort des cellules. 10 minutes d'exposition aux rayons rouges n'amènent aucune modification apparente, six minutes d'exposition aux rayons bleus suffisent à produire la décoloration et la mort des cellules. Des expériences portant sur *Nitella flexilis* montrent encore que les rayons jaunes, verts et bleus sont actifs et les

rayons rouges inactifs. Dans certaines expériences sur *Mesocarpus scalaris*, la lumière rouge tue la cellule, mais ne décolore pas la chlorophylle.

Récemment enfin P.-A. Dangeard (1910), reprenant une expérience analogue de Timiriazeff (1884), a exposé à un spectre des couches de collodion imprégnées de chlorophylle, et conclu que les rayons de la moitié la plus réfrangible du spectre n'exerçaient aucune action appréciable.

Dans toutes ces expériences, il n'existe aucune mesure de l'énergie lumineuse. D'autre part, les préparations de chlorophylle sont toujours impures, modifiées ou mélangées à d'autres pigments. Nous avons cherché à établir la relation entre la fréquence du rayonnement et son activité en tenant compte des faits rappelés au début de ce travail (Chapitre premier, § 4) et en opérant sur des solutions de chlorophylle pure.

Revenons à la relation (4) :

$$v = \frac{\sigma}{K} c^n P_a$$

nous voyons que pour connaître la susceptibilité photochimique σ de la destruction de la chlorophylle il faut déterminer d'une part la vitesse v de destruction, d'autre part, l'énergie absorbée P_a et la constante d'absorption K. On aura, pour les différentes longueurs d'onde :

$$\sigma_1 = \frac{v_1}{P_{a1}} K_1 \frac{1}{c^n}, \qquad \sigma_2 = \frac{v_2}{P_{a2}} K_2 \frac{1}{c^n}, \qquad \ldots$$

On pourra ainsi calculer à un facteur constant près $\left(\frac{1}{c^n}\right)$ les susceptibilités σ_1, σ_2, etc..., correspondant aux longueurs d'onde λ_1, λ_2 ... Notre travail comprendra donc deux parties : la détermination de la vitesse de destruction de la chlorophylle et la détermination de l'énergie absorbée par les solutions exposées à différentes lumières.

22. **La solution acétonique.** — Les expériences ont été faites sur des solutions de chlorophylle dans l'acétone. Le pigment était préparé par la méthode décrite dans le chapitre précédent, et dissout dans de l'acétone pure redistillée. Nous avons commencé par déterminer le spectre d'absorption d'une solu-

tion à 0,01 0/0. Les mesures, faciles dans la région visible jusqu'au violet, deviennent pénibles et imprécises dans le violet extrême. Nous avons donc complété les lectures faites avec un spectrophotomètre de KŒNIG-MARTENS par des déterminations avec un spectrographe en quartz, en utilisant comme source une lampe à vapeur de mercure, et nous avons étendu nos mesures, dans l'ultra-violet, jusqu'à 200 mμ. La technique de la photo-

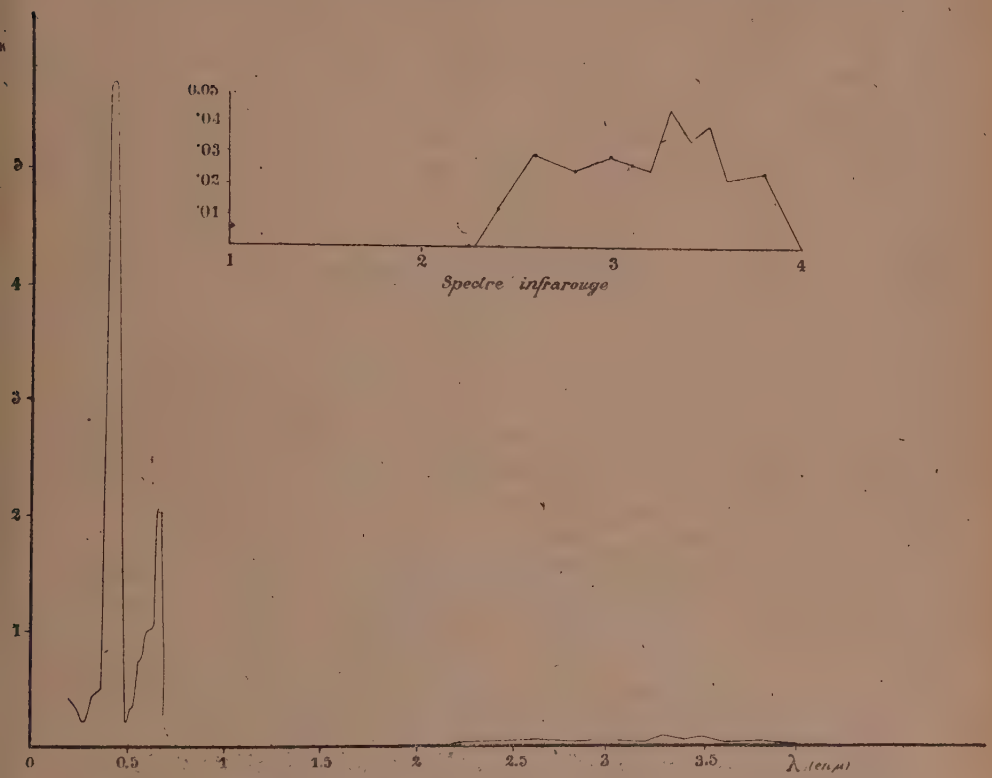


Fig. IX. — Spectre d'absorption d'une solution acétonique de chlorophylle.

métrie spectrographique a déjà été décrite (V. HENRI et R. WURMSER, 1913). Elle consiste en principe à photographier le spectre des raies du mercure à travers une cuve de quartz à faces parallèles contenant tantôt le solvant — ici l'acétone — tantôt la solution — ici la solution acétonique de chlorophylle. On cherche le rapport des durées d'exposition nécessaires pour obtenir dans les deux cas, pour une raie donnée, le même noir-

cissement sur la plaque photographique. Et on en déduit la constante d'absorption correspondante de la substance dissoute.

La figure IX représente le spectre d'absorption obtenu de cette manière. Les abscisses représentent les longueurs d'onde. En ordonnées sont portées les valeurs correspondantes de la constante d'absorption K définie par la relation

$$I = I_0 10^{-K}$$

où I_0 est l'intensité incidente et I l'intensité après un parcours de 1 cm. à travers la solution.

Nous avons cru intéressant d'indiquer sur la figure les résultats des mesures que nous avons faites, M. V. Henri et moi, dans le domaine infrarouge, au moyen d'un spectromètre de Hilger à prisme en sel gemme.

L'absorption des rayons infra-rouges par une solution benzénique de chlorophylle est si faible relativement à celle des rayons visibles qu'il a fallu la représenter à une échelle 17 fois plus grande à la partie supérieure de la figure. L'absorption de la chlorophylle avait déjà été étudiée dans l'ultra-violet par Dhéré et de Rogowski (1912), dans l'infra-rouge, par Donath (1896) et Van Gulik (1915), et, au point de vue des séries, par Vlès (1919). Nos mesures complètent et permettent de raccorder les résultats de ces auteurs.

23. Variations du spectre d'absorption des solutions de chlorophylle exposées à la lumière. — Lorsqu'une solution de chlorophylle est exposée à la lumière, elle vire peu à peu du vert au jaune. Il était important, pour pouvoir suivre la marche de la décomposition par des mesures spectrophotométriques, d'étudier les variations du spectre d'absorption au cours de la réaction. En traçant les spectres d'absorption successifs d'une solution acétonique de chlorophylle, au cours de l'exposition à la lumière, on obtient une série de courbes dont la figure X donne un exemple. Nous donnons dans le tableau suivant les valeurs de la constante d'absorption pour différentes longueurs d'onde. Le liquide, exposé à la lumière d'une lampe 1/2 watt 200 bougies, est une solution acétonique à 0,01 gr. 0/0. L'examen de ce tableau et surtout des courbes montre une déformation progressive du spectre d'absorption initial. Tandis que la bande rouge de la chlorophylle ($\lambda_{max} = 670$ mμ) décroît

régulièrement, la bande violette ($\lambda_{max} = 430$ mμ) décroît, mais en se déformant par suite de l'apparition d'une absorption

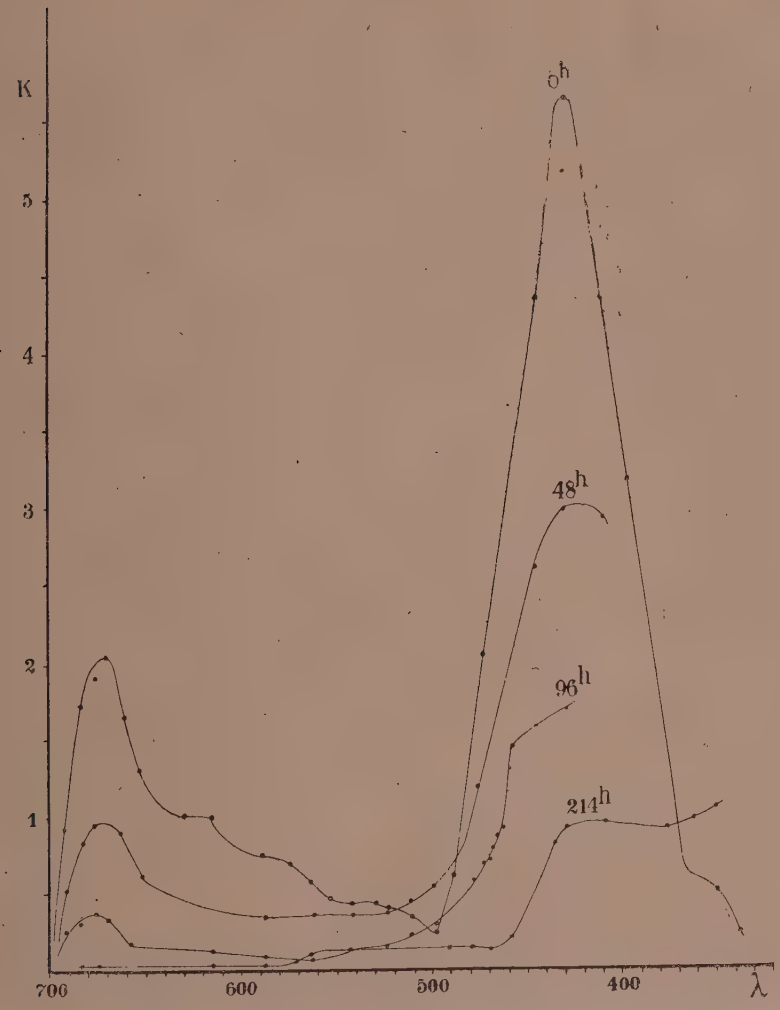


Fig. X. — Variations du spectre d'absorption d'une solution de chlorophylle exposée à la lumière.

ultra-violette qui étale la bande vers les courtes longueurs d'onde. Finalement on obtient un produit n'absorbant plus que le violet extrême et l'ultra-violet.

TABLEAU IX

Longueur d'onde (en mμ)	Durée de l'exposition (en heures)				
	0	48	96	120	214
703	—	—	0,03	—	—
692	0,97	0,522	0,256	—	—
684	1,73	—	0,312	—	0,025
683	—	0,788	—	0,110	—
676	1,90	—	0,380	—	0,025
678	—	0,948	—	—	—
670	2,06	—	0,346	—	—
663	—	0,896	—	—	—
661	1,59	—	—	—	—
653	1,29	—	0,176	0,011	—
652	—	0,592	—	—	—
630	1,03	—	—	—	—
616	1,03	—	0,145	0,011	0,025
589	0,74	0,354	0,075	0,044	0,025
563	0,57	0,422	0,083	0,053	0,100
542	0,43	0,414	0,122	0,082	—
530	0,43	—	—	—	—
524	0,40	0,396	0,152	0,113	—
511	0,36	0,458	0,232	0,197	—
498	0,23	0,532	0,288	0,196	—
487	0,60	0,680	—	0,182	—
482	—	0,896	—	—	—
480	—	1,002	—	—	—
478	—	1,184	0,588	—	0,125
473	2,06	—	0,680	0,220	—
470	—	—	0,710	—	0,125
468	—	—	0,718	—	—
466	—	—	0,872	—	—
463	—	—	0,910	0,244	—
458	—	—	1,453	—	0,200
445	4,00	2,650	1,570	—	—
436	—	—	—	1,866	0,82
430	5,70	3,00	1,70	—	0,90
411	4,40	2,95	—	—	0,95
398	3,20	—	—	—	—
375	—	—	—	—	0,90
365	0,60	—	—	—	—
361	—	—	—	—	0,97
350	0,50	—	—	—	1,05
339	0,23	—	—	—	1,08

21. **Variations du spectre d'absorption de la chlorophylle à l'obscurité.** — Les solutions de chlorophylle ne sont pas absolument stables à l'obscurité. Elles évoluent len-

tement, et suivant une marche analogue à celle de la réaction produite par la lumière. Il en résulte une augmentation graduelle du rapport des maxima violet et rouge, c'est-à-dire du rapport de la constante d'absorption pour $\lambda = 430$ mμ et $\lambda = 670$ mμ par suite de l'apparition des produits absorbant l'ultra-violet. En 15 jours le rapport $K_{430} : K_{670}$ est passé de 2,76 à 3,4. Il n'y a pas lieu de tenir compte de cette lente évolution dans la suite des expériences, à condition de préparer toujours les solutions au moment de les exposer.

25. Loi de Beer. — Le dosage de la chlorophylle par mesure spectrophotométrique n'est possible que si l'on connaît la relation existant entre l'absorption et la concentration. On sait que d'après la loi de Beer, l'affaiblissement de la lumière est proportionnel à la concentration c du milieu absorbant, c'est-à-dire que l'on a :

$$\log \frac{I_0}{I} = \varepsilon c d = K d$$

ε étant le coefficient d'absorption moléculaire, et d l'épaisseur du milieu. La loi de Beer signifie que l'absorption de deux solutions de concentrations différentes c_1 et c_2 sera la même quand les épaisseurs correspondantes d_1 et d_2 de ces solutions seront inversement proportionnelles aux concentrations, c'est-à-dire quand on aura :

$$c_1 : c_2 = d_2 : d_1.$$

Tout se passera alors comme si l'affaiblissement de chaque rayon lumineux était proportionnel au nombre de molécules absorbantes rencontrées par lui.

Dans une première expérience nous avons déterminé l'absorption pour des concentrations respectivement égales à 1, 0,5 et 0,25, et pour une épaisseur de 1 cm. constante. Nous avons obtenu :

Concentration	1	0,5	0,25
Constante d'absorption K . .	0,696	0,386	0,218
$\varepsilon = \frac{K}{c}$	0,696	0,772	0,872

Le coefficient ε n'étant pas constant — il croît pour les gran-

des dilutions — la loi de Beer ne s'applique pas aux solutions acétoniques de chlorophylle.

Nous avons effectué de nouvelles expériences en solutions acétonique et alcoolique. Leurs résultats sont représentés dans la figure XI, où la plus petite courbe correspond à la solution alcoolique. Les concentrations sont en abscisses et les constantes d'absorption en ordonnées. Si la loi de Beer s'appliquait les points devraient se trouver sur des droites.

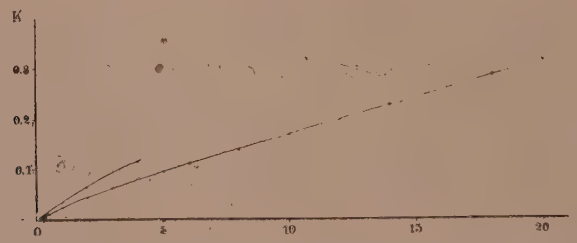


Fig. XI. — Variation de la constante d'absorption avec la concentration.
Courbe supérieure : solution alcoolique.
Courbe inférieure : solution acétonique.

Toutefois les écarts à la loi de Beer ne sont pas si grands qu'ils ne puissent être négligés quand on détermine spectrophotométriquement les vitesses *initiales* de destruction des solutions exposées à la lumière.

26. **Choix des sources de lumière.** — Nous avons employé comme source de lumières blanche, rouge et verte, une lampe 1/2 watt 200 bougies. Pour obtenir un rayonnement intense de lumière violette, nous avons eu recours à une lampe à vapeur de mercure en quartz, du type Westinghouse Cooper Hewitt fonctionnant sous 75 volts et 3 à 4 ampères. On sait que cette lampe a une émission sélective intense dans le violet, pour les raies 435,8, 407,8 et 404,6 mμ.

27. **Préparation des écrans.** — Trois régions du spectre ont été séparées au moyen des écrans suivants, contenus dans une cuve à faces parallèles de 4 cm. d'épaisseur :

1° Une solution de bichromate de potassium à 40 gr. pour 1.000 qui arrête les radiations de longueur d'onde inférieures à 560 mμ.

2° Une solution de chlorure cuivrique à 12 gr. pour 1.000 transparente entre 580 et 460 mμ.

3° Une solution de sulfate de cuivre ammoniacal à 11 gr. pour 1.000 qui arrête les radiations de longueurs d'onde supérieures à 490 mμ.

Chacun de ces écrans a été étudié au spectrophotomètre. Le tableau suivant indique les valeurs de la transparence exprimée en 0/0 de l'énergie incidente.

TABLEAU X

Bichromate de potassium		Chlorure de cuivre		Sulfate de cuivre ammoniacal	
λ	Transparence	λ	Transparence	λ	Transparence
694	100	578	10,6	488	5,0
670	92,5	560	50,0	476	28,0
640	75,0	536	70,0	470	46,0
616	57,0	520	73,4	460	70,5
600	40,0	492	70,0	436	100
580	20,0	460	20,6		
564	3,2				

Les deux premiers écrans étaient interposés entre la lampe 1/2 watt et la solution exposée ; l'écran de sulfate de cuivre, entre la lampe à vapeur de mercure et la solution, pour éliminer les radiations jaunes et vertes de l'arc.

28. **Détermination de la vitesse de décoloration.** — On a vu que l'action de la lumière sur les solutions de chlorophylle dans des solvants neutres peut être suivie à l'aide du spectrophotomètre. Elle se traduit par une disparition de la bande d'absorption située dans le rouge et la formation de produits absorbant le violet extrême et l'ultra-violet. L'apparition de ces produits complique la modification de l'absorption

dans la région violette, en compensant plus ou moins la disparition de la grande bande de la chlorophylle située dans cette région du spectre. Il est donc nécessaire, pour suivre la vitesse de décomposition de la chlorophylle, d'effectuer des mesures dans la région rouge.

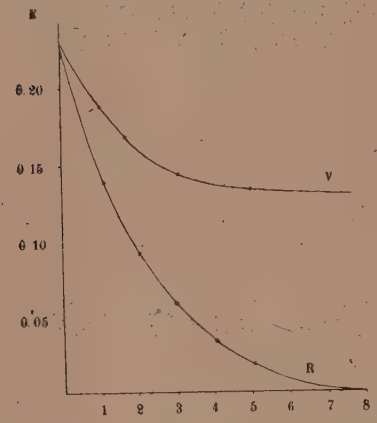


Fig. XII. — R, marche de la réaction en lumière rouge ; V, en lumière violette.

Pratiquement nous avons suivi la décroissance du maximum d'absorption correspondant à $\lambda = 670$ mμ.

29. Marche de la réaction en lumière rouge. — La réaction sous l'influence de la lumière rouge a pu être suivie pendant plusieurs jours jusqu'à destruction complète de la quantité de chlorophylle présente au début. Le tableau suivant indique les résultats des mesures (fig. XII).

TABLEAU XI.

Temps (en jours)	Constante d'absorption	Temps (en jours)	Constante d'absorption
0	0,231	4	0,034
1	0,143	5	0,019
2	0,092	7	0,003
3	0,059	8	0,000

Nous n'avons pas cherché à établir rigoureusement l'ordre de la réaction par suite des écarts à la loi de Beer. Ces écarts, négligeables quand il s'agit de comparer des vitesses initiales comme il sera fait dans la suite, deviennent importants quand les déterminations s'étendent sur de larges différences de con-

centration. Toutefois, si l'on s'en tient au début de la réaction, on peut admettre :

$$K = \varepsilon c$$

et la relation (3) devient si la réaction est unimoléculaire, n étant égal à 1 :

$$v = \frac{\sigma}{\varepsilon} P_a$$

c'est-à-dire que la vitesse est proportionnelle à l'énergie absorbée. Or on obtient, en mesurant graphiquement les vitesses et calculant l'énergie absorbée d'après la constante K :

TABLEAU XII.

Temps (en jours)	0	1	2	3	4
Vitesse $= v$	17	11	8	5	3,5
Energie absorbée $= P_a$	0,41	0,28	0,20	0,14	0,08
$v : P_a$	2,4	2,5	2,5	2,8	2,3

30. **Marche de la réaction en lumière violette.** — La marche de la réaction est différente en lumière violette, comme le montrent les chiffres suivants qui représentent les valeurs de K, toujours mesuré pour $\lambda = 670$ mμ (courbe V de la fig. XII) (1).

Temps (en heures).	0	3	5	9	15	24
K	0,46	0,38	0,34	0,29	0,27	0,26

Au bout de 9 heures, dans les conditions de l'expérience, la réaction est complètement arrêtée. Les produits de la réaction qui, nous l'avons vu, absorbent fortement l'extrémité violette du spectre ralentissent la destruction du pigment.

31. **Proportionnalité à la puissance incidente.** — Nous avons vérifié la proportionnalité à la puissance incidente P_0 en faisant varier la concentration d'une solution de bichromate de potassium ou de sulfate de cuivre interposée entre la source et la chlorophylle. Les résultats ont été les suivants.

(1) Les ordonnées de la courbe V ont été réduites de moitié et les abscisses multipliées par 8, relativement à celles de la courbe R.

TABLEAU XIII.

Lumière rouge			Lumière violette		
P_o	v	$v : P_o$	P_o	v	$v : P_o$
10	45	4,5	10	30	3,0
8	36	4,5	9	27,5	3,05
5	22	4,4	7	21	3,0
2	9,8	4,9	3	9,4	3,13
1	3,9	3,9	1	3,4	3,4

Les puissances P_0 étaient mesurées directement avec la pile thermoélectrique. Les vitesses v sont proportionnelles aux diminutions de la constante d'absorption au bout de 1 heure d'exposition.

32. Comparaison de l'action des lumières rouge, verte et violette. — Il résulte de ce qui précède que pour comparer

TABLEAU XIV.

Temps en heures	Constante d'absorption pour $\lambda = 670$ mμ								
	en lumière rouge $\lambda > 560$ mμ			en lumière verte $\lambda = 580\text{-}460$ mμ			en lumière violette $\lambda < 400$ mμ		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
0	0,460	0,458	0,456	0,461	0,460	0,458	0,460	0,458	0,457
1	0,422	—	—	—	—	—	0,430	—	—
2	0,388	0,390	0,389	—	—	—	0,404	—	—
3	0,352	—	—	—	—	—	0,380	0,378	0,380
4	0,318	—	—	—	—	—	0,361	0,360	—
5	0,284	0,280	0,281	0,456	0,457	0,456	0,341	0,338	0,340
6	0,248	—	0,246	—	—	—	0,324	—	—
7	0,212	0,210	—	—	—	—	0,310	—	—
8	0,180	0,180	0,176	0,453	—	—	0,296	0,300	0,298
9	—	—	—	0,453	0,453	0,453	0,290	0,290	0,292

les vitesses de décoloration de la chlorophylle sous l'action des diverses lumières il faudra ne tenir compte que des débuts de la réaction et comparer seulement les vitesses initiales. Le tableau ci-dessus indique le résultat de nos expériences, toutes les mesures de la constante d'absorption étant effectuées pour la longueur d'onde $\lambda = 670$ mμ.

On déduit de ces chiffres les nombres suivants proportionnels aux vitesses initiales.

En lumière rouge	lumière verte	lumière violette
45	1,25	30

33. **Méthode de mesure de l'énergie absorbée.** — Nous avons déterminé directement l'énergie absorbée au moyen d'une pile thermo-électrique. Le dispositif était le suivant :

Une pile thermo-électrique de Rubens formée de 20 éléments fer-constantan, était connectée avec un galvanomètre Hartmann et Braun de résistance intérieure égale à 6,5 ohms. Cette résistance est sensiblement égale à celle de la pile Rubens. Les solutions de chlorophylle étaient contenues dans les mêmes cuves à faces parallètes utilisées pour l'exposition à la lumière. La source employée et les écrans interposés étaient également les mêmes que dans les mesures de vitesse de réaction. Dans ces conditions il suffisait de faire une mesure de déplacement du spot avec interposition de la cuve contenant la chlorophylle, puis d'une cuve semblable contenant le solvant pour avoir une détermination de l'énergie absorbée. Les mesures ont donné les résultats suivants :

TABLEAU XV.

	Rouge	Vert	Violet
Déplacement du spot avec chlorophylle . .	250 mm.	15 mm.	3 mm.
Déplacement du spot sans chlorophylle . .	300	17	32
Energie absorbée (en valeur relative) . .	50	2	29

34. Variation de la susceptibilité avec la longueur d'onde. — Nous pouvons maintenant calculer la vitesse de décoloration produite par une même quantité d'énergie absorbée et en déduire la susceptibilité photochimique, pour les trois régions du spectre étudié, d'après la relation (4).

Nous obtenons :

TABLEAU XVI.

	Rouge	Vert	Violet
Energie absorbée $= P_a$.	50	2	29
Vitesse de la réaction $= v$.	45	1,25	30
$v : P_a$	0,9	0,62	1,03
Constante d'absorption $= K$.	0,46 ($\lambda = 670$)	0,09 ($\lambda = 520$)	1,31 ($\lambda = 430$)
Susceptibilité phot. $= \sigma$	0,41	0,056	1,34

Ainsi la susceptibilité photochimique varie avec la longueur d'onde d'une façon sensiblement proportionnelle à la constante d'absorption K, sauf au voisinage du minimum où elle décroît plus rapidement.

Les radiations dont les fréquences correspondent aux deux bandes de la chlorophylle rouge et violette sont actives. Elles sont à énergie absorbée égale, également actives.

35. La décoloration dans les leucites. — Nous avons déjà vu que le mécanisme chimique de la décoloration dans les leucites est le même qu'en solution dans les solvants neutres, qu'il constitue là aussi une photooxydation (chapitre II, § 17). Il est donc vraisemblable que la loi d'action du rayonnement soit la même dans les deux cas.

Cependant Pringsheim (1881) avait obtenu des résultats complètement différents des nôtres, en ce qui concerne l'action des lumières de différentes couleurs sur la décoloration des leucites. Il nous a paru nécessaire d'effectuer quelques essais, au moins qualitatifs sur des végétaux vivants. Nous nous sommes

adressé à des thalles d'*Ulva lactuca* qui constituent pour toutes les recherches photochimiques un matériel de choix.

Exposés au soleil derrière des écrans de bichromate de potassium et de sulfate de cuivre, les fragments irradiés par de la lumière rouge ont été rapidement décolorés (5 à 6 heures) ; les fragments irradiés par de la lumière bleue dont l'intensité est plus faible ont été altérés beaucoup plus lentement (la destruction de chlorophylle étant au bout de 6 heures d'environ 20 0/0). Il serait utile de reprendre ces expériences quantitativement, sur des thalles tués préalablement pour éviter l'influence des actions abiotiques. Mais ces simples essais qualitatifs rendent extrêmement probable que les différentes radiations agissent respectivement, sur la chlorophylle dans les leucites, suivant la même loi qu'en solution.

36. **L'action protectrice des lipochromes.** — Les résultats que nous venons d'obtenir permettent d'examiner s'il existe ou non, comme on l'a prétendu, un rôle protecteur des pigments jaunes (ou lipochromes) qui accompagnent la chlorophylle dans les plantes.

Parmi toutes les hypothèses qui ont été soutenues jusqu'ici, relativement à la signification physiologique des lipochromes, leur intervention comme protecteurs paraissait la plus admissible. En effet, l'idée d'Engelmann (1887) que ces pigments participent à l'assimilation du carbone n'a jamais pu être vérifiée. Chez les Algues brunes étudiées par Engelmann, et qui sont particulièrement riches en lipochromes, on constate bien un déplacement du maximum principal de l'assimilation. Mais le second maximum que l'on observe chez les Algues vertes dans la région spectrale où les lipochromes absorbent, manque chez les Algues brunes. Il serait indispensable de reprendre quantitativement, maintenant qu'est connue (chapitre IV, § 47) la loi d'assimilation en fonction de la longueur d'onde, une recherche sur des algues contenant très peu de chlorophylle et beaucoup de lipochromes, et de comparer les courbes obtenues avec ces algues aux courbes normales. Cette recherche pourrait aussi être effectuée sur des feuilles pauvres en chlorophylle, à condition de déterminer l'absorption de ce pigment

et de ceux qui l'accompagnent (lipochromes et pigments solubles dans l'eau).

Le seul travail qui se rapproche de ces conditions, celui de ENGELMANN (1887) sur les feuilles jaunes de *Sambucus nigra* var. *aurea*, ne montre aucunement une courbe d'assimilation s'élevant quantitativement dans la région d'absorption des lipochromes, comme l'exigerait leur intervention.

Quant aux expériences sur l'assimilation globale des feuilles étiolées on n'en peut tirer aucune indication sur le rôle des lipochromes dans l'assimilation (1). On peut dire que tout ce que l'on sait jusqu'ici infirme l'hypothèse d'une fonction assimilatrice des lipochromes.

Le rôle de la carotine dans les processus respiratoires des plantes, suggéré par ARNAUD (1889), ne paraît pas mieux fondé. Dans les expériences récentes de WILLSTÆTTER et STOLL (1918) le dosage des pigments n'a décelé aucune variation après une respiration accélérée.

Il est au contraire certain que ces pigments diminuent la vitesse de photooxydation. En effet, les lipochromes absorbent fortement des radiations bleues et violettes, que nous savons être actives sur la chlorophylle. Des expériences directes de D. IWANOWSKI (1913) ont montré que la lumière détruit plus rapidement des préparations colloïdales de chlorophylle en l'absence qu'en présence des lipochromes.

Toutefois, lorsqu'on parle d'un rôle protecteur des lipochromes, on entend implicitement que ce rôle est favorable à la plante.

Nous allons montrer qu'au contraire il est tout à fait illusoire. D'abord il est compensé — pour employer un langage finaliste — par une diminution de l'intensité de l'assimilation, les radiations absorbées par les lipochromes étant actives dans le phénomène chlorophyllien. D'autre part, lorsqu'on calcule le ralentissement exercé par les lipochromes, du fait de leur absorption, sur la photooxydation de la chlorophylle, on obtient une valeur qui ne dépasse pas 6,5 0/0. Pour faire ce calcul nous avons envisagé le cas d'un thalle d'*Ulva lactuca*. Nous

(1) Ces expériences (KOHL, 1906, MOLISCH, 1905, STAHL, 1906, IRVING, 1910, WILLSTÆTTER, 1915, BRIGGS, 1920) font intervenir des facteurs multiples.

avons pu en effet (chapitre IV, § 43) déterminer directement l'absorption des divers pigments dans ce thalle mince qui se prête remarquablement aux mesures spectrophotométriques.

Nous pouvions donc connaître le pouvoir absorbant A_λ pour chaque longueur d'onde :

1° De la chlorophylle seule ;

2° Des lipochromes seuls ;

3° De la somme chlorophylle + lipochromes.

TABLEAU XVII.

Chlorophylle seule

λ	A_λ	E_λ	$A_\lambda.E_\lambda$	λ	A_λ	E_λ	$A_\lambda.E_\lambda$
736	0,18	520	93,6	580	0,05	622	31,1
705	0,35	550	192,5	560	0,03	615	18,4
690	0,52	560	291,2	550	0,05	610	30,5
675	0,56	575	322,0	530	0,05	600	30,0
664	0,43	585	251,5	520	0,05	590	29,5
649	0,34	600	204,0	492	0,05	550	27,5
640	0,25	605	151,2	476	0,05	510	25,5
634	0,25	610	152,5	461	0,05	460	23,0
630	0,21	611	128,3	450	0,26	425	110,5
619	0,16	615	98,4	440	0,59	385	227,1
590	0,05	625	31,2	430	0,43	350	150,5
				400	0,31	235	72,8

Lipochromes et Chlorophylle + Lipochromes

λ	E_λ	Lipochromes		Chlorophylle + Lipochromes	
		A_λ	$A_\lambda.E_\lambda$	A_λ	$A_\lambda.E_\lambda$
530	600	0	0	0,05	30,0
520	590	0,07	41,3	0,12	70,8
492	550	0,45	247,5	0,48	264,0
476	510	0,41	209,1	0,44	224,4
461	460	0,49	225,4	0,51	234,6
450	425	0,40	170,0	0,54	229,5
440	385	0,41	157,8	0,75	288,8
430	350	0,37	129,5	0,65	227,5

Langley (1903) a d'autre part déterminé la courbe de répartition de l'énergie dans le spectre solaire. On peut donc pour chaque longueur d'onde connaître l'énergie absorbée en multipliant le pouvoir absorbant A_λ par l'énergie solaire E_λ. La courbe tracée en portant le produit $A_\lambda . E_\lambda$ en ordonnées et les longueur d'onde λ en abscisses limite une surface proportionnelle à l'énergie absorbée. En traçant les trois courbes correspondant à la chlorophylle seule, aux lipochromes seuls et à leur totalité, il suffit de mesurer les aires décrites par ces courbes pour avoir tous les éléments du calcul. Nous savons en effet, par ce qui précède, la relation qui existe entre la vitesse de décoloration et l'énergie absorbée.

Ce calcul ne sera évidemment valable que pour la lumière directe du soleil. En lumière diffuse, plus riche en rayons de courtes longueurs d'onde, la protection des lipochromes serait plus importante. Mais l'expérience prouve que l'on n'observe de décoloration appréciable qu'à la lumière directe du soleil.

Le tableau ci-dessus indique les chiffres qui nous ont servi pour le calcul. Au dessus de 530 mμ, l'absorption des lipochromes étant pratiquement nulle, les trois courbes se confondent.

La mesure des surfaces donne les valeurs suivantes pour l'énergie absorbée par la chlorophylle.

TABLEAU XVIII.

	Sans lipochromes	En présence de lipochromes
Région violette ($\lambda < 460$)	820	570
Reste du spectre visible ($\lambda > 460$)	2.990	2.990
Energie absorbée totale	3.810	3.560

La vitesse de destruction est sensiblement proportionnelle à l'énergie absorbée (la région du minimum étant tout à fait négligeable), on a donc, du fait des lipochromes, une diminution de la vitesse de destruction qui n'atteint pas plus de 6,50/0.

En fait, nous avons montré que le mécanisme protecteur est tout autre. Il est constitué par la présence d'autres colloïdes dans le chloroplaste. Ce sont les complexes formés avec la chlorophylle qui lui confèrent sa stabilité *in vivo*.

S'il existe, comme l'a suggéré F. G. Kohl (1906), une action protectrice des lipochromes sur les diastases de la feuille, celle-ci est certainement beaucoup plus importante que l'action protectrice vis-à-vis de la destruction de la chlorophylle. On sait depuis les recherches de Downes et Blunt (1878) sur la zymase de levure, que ce ferment se détruit à la lumière. Brown et Morris (1893) ont établi que la quantité d'amylase contenue dans les feuilles, aux différentes périodes de la journée semble liée aux conditions d'éclairement. On sait enfin (A. Chauchart, 1920) que les radiations qui agissent le plus activement sur les diastases sont les radiations de courtes longueurs d'onde, c'est-à-dire, pour le spectre solaire, précisément celles qui sont absorbées par les lipochromes. Ces pigments absorbent fortement les radiations violettes comprises entre 550 et 400 mμ. Dans cette région, leur présence entraîne donc une diminution notable de l'énergie lumineuse, capable d'agir sur les diastases. En effet chlorophylle et lipochromes se comportent comme des écrans qui atténuent la lumière. Dans la région bleue du spectre, la chlorophylle seule absorberait 1,3 fois moins d'énergie que la totalité des pigments.

Mais toutes ces hypothèses sur les fonctions des lipochromes semblent n'avoir d'autres bases que le souci finaliste de leur faire jouer un rôle avantageux pour le végétal. En fait, la physiologie de ces pigments ne pourra être écrite qu'après en avoir étudié les conditions d'existence et les variations quantitatives.

Ils semblent devoir être considérés, provisoirement, comme des substances de déchet. Par leur constitution hydrocarburée, ils se rapprochent de ces corps, comme le pétrole et l'ambre, qui, véritables fossiles de la chimie organique, selon l'expression de M. G. Urbain (1919), nous indiquent vers quelles formes stables évoluent les constituants des êtres vivants. A cause de leur stabilité chimique, ils ne peuvent pas être réassimilés directement par la plante. Des travaux récents de l'Ecole américaine montrent qu'ils passent sans altération à travers les

organismes animaux (Leroy S. Palmer et C. H. Eckles, 1914). C'est la lumière qui intervient dans les plantes pour réaliser, lentement d'ailleurs, une combustion, sans doute incomplète, dont les produits peuvent alors être réutilisés par le végétal.

Si l'on admet que la chlorophylle se forme aux dépens des sucres, elle ne peut prendre naissance que par des processus réducteurs. On peut penser que les pigments jaunes des chloroplastes apparaissent au cours de ces réductions. On concevrait ainsi la constance relative des rapports entre la chlorophylle, la carotine, et la xanthophylle dans les leucites. Un régime s'établirait entre la destruction de la chlorophylle, sa formation, et la production des lipochromes. Les vitesses de ces diverses réactions régleraient la proportion des quantités des divers pigments présents dans la feuille. Cette hypothèse paraît plus admissible que celle de Lubimenko et Monteverde (1913) qui fait dériver les lipochromes de la chlorophylle par oxydation sous l'influence d'oxydases. Guilliermond (1919) a récemment apporté des faits histologiques contre cette théorie qui ne semble pas chimiquement fondée.

Laissant de côté toute hypothèse, nous conclurons que les lipochromes ne protègent que dans une mesure infime la chlorophylle contre la photooxydation mais réduisent d'environ 30 0/0 la vitesse de destruction des diastases par la lumière.

Les calculs qui nous ont conduit à ces résultats nous serviront encore, au cours du prochain chapitre, pour déterminer dans quelle mesure les lipochromes ralentissent l'action photosynthétique des radiations qu'ils absorbent.

CHAPITRE IV

ACTION DES RADIATIONS DE DIFFÉRENTES LONGUEURS D'ONDE SUR L'ASSIMILATION CHLOROPHYLLIENNE

37. Principe de la recherche. — Nous avons signalé au début de ce travail que l'étude des relations entre la vitesse des réactions photochimiques et la fréquence des radiations actives constituait le meilleur procédé d'analyse dont nous disposions jusqu'ici pour la connaissance de ces réactions. En particulier, chaque fois que l'intensité du phénomène photochimique pourra être considérée comme proportionnelle à l'énergie incidente, et que le corps sera réparti de façon homogène dans toute l'épaisseur de la couche traversée par la lumière, on devra rechercher si la loi d'absorption photochimique s'applique. Toutes les recherches expérimentales ont confirmé, sinon la validité quantitative de cette loi, au moins un accroissement de la susceptibilité photochimique chaque fois que la constante d'absorption du système augmente. Dans un système à deux bandes d'absorption, comme le système chlorophyllien, nous pourrons nous attendre à ne trouver qu'un seul maximum de la susceptibilité. Il y aura lieu, dans ce cas, de chercher une interprétation chimique analogue à celle que nous avons proposé pour la décomposition de l'aldéhyde acétique (§ 5). Si nous obtenons une relation différente, par exemple un maximum de la susceptibilité photochimique dans une région de minimum d'absorption, nous pourrons conclure que la vitesse de la réaction ne dépend pas seulement de l'absorption de la chlorophylle, mais

d'un autre facteur dont la valeur n'est pas la même pour toutes les régions du spectre.

Il est légitime de soumettre à cette analyse l'assimilation chlorophyllienne. Dans ce cas, les deux conditions nécessaires pour l'application de la loi d'absorption photochimique semblent suffisamment remplies.

1° On sait (§ 19) que les grains de chlorophylle sont répartis de façon homogène dans toute la masse des leucites. Dès lors la loi de décroissance

$$P = P_0 e^{-Kl}$$

peut s'appliquer à la lumière qui traverse une épaisseur l de leucite.

2° La proportionnalité à l'énergie incidente a été vérifiée par de nombreux observateurs, en lumière totale. C'est ainsi que Reinke (1883) trouva, en comptant le nombre de bulles dégagées par un rameau d'*Elodea* dans de l'eau de source additionnée de CO^2, que la vitesse de l'assimilation augmente proportionnellement à l'intensité quand celle-ci passe de 1/24 à 1/2 de la lumière directe du soleil. Blackman et Smith (1911) interprétant les expériences de Pantanelli (1903) ont montré qu'entre 1/36 et 1/4 de l'intensité du soleil, Elodea assimile proportionnellement à l'énergie reçue. Il ne faut évidemment pas dépasser les intensités au delà desquelles d'autres facteurs de l'assimilation, tels que la teneur en CO^2 du milieu, limitent le phénomène. Toutes nos expériences seront faites pour de très faibles intensités, au plus 1/3 de l'intensité de la lumière *diffuse* du jour (1).

38. **Résultats des travaux antérieurs.** — Les premiers expérimentateurs qui étudièrent l'action des diverses radiations sur l'assimilation chlorophyllienne se contentèrent ordinairement d'exposer des fragments de plantes à la lumière du soleil en interposant des écrans colorés. C'est ainsi que Daubeny (1836), Cloez et Gratiolet (1851), Sachs (1864), Cailletet (1868), Deherain (1869) virent que l'assimilation était particulièrement

(1) Il est regrettable que des expériences analogues n'aient pu être encore effectuées avec des rayonnements monochromatiques.

intense dans la partie la plus réfrangible du spectre. Timiriazeff (1869) précisa le premier que le maximum d'assimilation était situé dans la région rouge, et non dans le jaune, comme on le croyait depuis Daubeny, et comme Draper (1844), puis Pfeffer (1871) et Muller (1872), employant au lieu d'écrans la méthode de décomposition par un prisme, crurent l'établir. Timiriazeff en 1876 reprit ces expériences et, inspiré par un travail classique de Melloni, montra que les fentes dont s'étaient servis ces expérimentateurs étaient trop larges pour donner un spectre pur. Afin d'obtenir des images aussi monochromatiques que possible, il compensa la diminution d'intensité qui résulte de la petitesse de la fente en employant un héliostat de Foucault avec un très large miroir et en perfectionnant son matériel d'analyse gazométrique. Il établit ainsi la position du maximum entre les raies B ($\lambda = 687^{m}\mu$) et C ($\lambda = 656^{m}\mu$) de Fraunhofer. Après plus de quarante ans, on n'a pas mieux fait au point de vue expérimental. Et ce sera pour nous une grande satisfaction de montrer que le résultat, en apparence paradoxal, auquel nous aboutissons, peut être particllement calculé à partir des chiffres de Timiriazeff.

Six ans plus tard, Engelmann (1882) imagina le procédé extrêmement sensible pour déceler le dégagement d'oxygène qui consiste à observer au contact d'une algue filamenteuse le mouvement de bactéries aérobies : en l'espèce, *Bacterium termo,* la bactérie ordinaire de la putréfaction. Grâce à cette méthode, d'ailleurs très sujette à caution, il mit en évidence (1883) outre le maximum déjà connu, un second maximum au voisinage de la raie F ($\lambda = 486^{m}\mu$) de Fraunhofer. L'existence du nouveau maximum fut confirmée par Kohl (1897) au moyen de la méthode des bulles et par Timiriazeff (1904), au moyen de l'analyse volumétrique. Mais elle fut niée par Reinke (1884) et par Pfeffer (1871). Récemment encore, Dangeard (1911) par une méthode, il est vrai, indirecte, n'a pas retrouvé ce maximum.

Dans toutes les recherches que nous venons de citer, la relation obtenue entre la fréquence des radiations et leur pouvoir assimilateur, était tout à fait contingente. Elle dépendait de la répartition de l'énergie dans le spectre solaire ou plus exactement dans la lumière du jour (rayons directs du soleil +

rayons réfléchis par la terre + lumière du ciel). Le premier, Prillieux (1869) comprit qu'il fallait tenir compte de cette répartition et comparer les vitesses d'assimilation pour des intensités égales des rayonnements de diverses couleurs. Malheureusement, il confondait, comme le fit remarquer Sachs (1872), égalité d'intensité lumineuse avec égalité de quantité d'énergie. Engelmann (1884), par des mesures microspectrophotométriques, tenta de prouver la proportionnalité de l'assimilatton à l'énergie absorbée par les pigments. Mais sa méthode des bactéries ne peut être aucunement considérée comme quantitative. Le premier travail véritablement bien conduit est celui de Kniep et Minder (1909). Dans ce travail, on compare l'assimilation en présence de trois groupes de rayons, produisant sur une pile thermoélectrique un échauffement identique. La lumière solaire est filtrée au moyen d'écrans en verre coloré de Schott u. Gen. pour les régions rouge ($\lambda > 608^{m}\mu$) et bleu ($\lambda < 524^{m}\mu$). Une région verte (512-524) est délimitée au moyen d'une solution constituée par un mélange de chromate de potassium et d'oxyde de cuivre ammoniacal. Cette solution n'a malheureusement pas été soumise à l'examen spectrophotométrique. Les rayons infrarouges et ultra-violets sont arrêtés par une épaisseur d'eau contenant des traces de KCr^2O^7 et $CuSO^4$. L'énergie de chacun des trois faisceaux colorés est déterminée au moyen d'une pile thermoélectrique de Rubens, connectée avec un galvanomètre de Deprez-d'Arsonval. La méthode de mesure de l'assimilation est par contre beaucoup moins satisfaisante. Kniep et Minder se sont contentés de compter le nombre de bulles de gaz dégagés par des rameaux d'*Elodea Canadensis*. Or il semble bien que si cette méthode donne des indications valables quand il s'agit de valeurs de l'intensité de l'assimilation assez voisines, il n'en est plus de même quand il faut comparer une assimilation intense à une autre beaucoup plus faible. Quoi qu'il en soit, la lumière rouge et la lumière bleue, à intensités égales, agissaient de façon sensiblement identique. Par contre la lumière verte, même plus intense, ne produisait qu'une assimilation négligeable.

Ce dernier résultat paraît assez surprenant ; quand on se reporte aux expériences si précises de Timiriazeff, on trouve que pour la raie E, c'est-à-dire pour $\lambda = 527^{m}\mu$, l'assimilation est à peine de trois fois inférieure à sa valeur maxima dans le rouge

pour une même intensité lumineuse. Il était inattendu de trouver entre 524 et 512$^{m\mu}$ une valeur aussi minime que celle indiquée par KNIEP et MINDER. Pour cette raison, et parce que, dans leurs expériences, l'énergie absorbée par la chlorophylle n'était pas connue, il devenait indispensable de reprendre la question. URSPRUNG (1918) en mesurant les quantités d'amidon formées par les diverses radiations, trouve, contrairement aux expérimentateurs précédents, un maximum dans la région rouge du spectre, puis une décroissance lente jusqu'au violet en passant par une série de maxima secondaires. Mais dans ces expériences, l'assimilation n'est pas déterminée directement ; l'action des rayons violets sur les diastases peut intervenir dans la mise en réserve des hydrates de carbone sous forme d'amidon ; il convenait de faire des mesures directes de la consommation de CO^2.

Les expériences que nous allons décrire nous ont conduit à des résultats tout différents.

39. **Schéma des expériences.** — Il nous faut connaître d'une part les vitesses v_1, v_2, v_3 de l'assimilation sous l'action de rayonnements de diverses longueurs d'onde, d'autre part les quantités d'énergie absorbées P_{a_1}, P_{a_2}, P_{a_3}.

1° Trois régions du spectre ont été étudiées, comme il a été fait pour la destruction photochimique de la chlorophylle. Ces trois régions ont été séparées par des écrans, 1, 2, 3, de transparence déterminée au spectrophotomètre.

2° Des fragments d'égale surface découpés dans le thalle d'une même algue sont exposés derrière les écrans. L'intensité de l'assimilation est mesurée pour chaque fragment au moyen d'une méthode nouvelle imaginée par LOEB et OSTERHOUT. On obtient ainsi les vitesses d'assimilation.

3° En même temps que l'assimilation est mesurée, on détermine l'intensité du rayonnement qui traverse chaque écran. Pour cela, on expose à côté du fragment de thalle, une petite cuve contenant une solution acétonique de chlorophylle, dont la vitesse de destruction sous l'action des trois lumières, a été précédemment déterminée (chapitre III). On connaît donc les énergies incidentes P_{o_1}, P_{o_2}, P_{o_3}.

4° On a choisi une algue dont le thalle se prête à une déter-

mination spectrophotométrique directe de la courbe d'absorption du pigment. On connaît donc pour chaque longueur d'onde, le pouvoir absorbant de ce pigment. Il suffit pour calculer l'énergie absorbée derrière les écrans 1, 2, 3, de multiplier P_{o1}, P_{o2}, P_{o3}, par les pouvoirs absorbants A_λ de toutes les longueurs d'onde comprises dans chacun des intervalles 1, 2, 3. En portant en ordonnées ces produits, et en abscisses les longueurs d'onde correspondantes, les aires décrites dans les intervalles 1, 2 et 3 sont proportionnelles aux énergies absorbées P_{a1}, P_{a2}, P_{a3}.

40. **Description des écrans.** — Les écrans sont les mêmes que ceux qui ont été décrits précédemment (Chapitre III, § 27). Ils sont constitués par des cuves à faces parallèles de 2 cm. d'épaisseur, renfermant une solution de bichromate de potassium, de chlorure cuivrique, ou de sulfate de cuivre ammoniacal. Ces écrans ont été examinés au spectrophotomètre. Le tableau suivant indique leurs transparences T_λ exprimées en 0/0 de l'intensité incidente.

TABLEAU XIX.

Bichromate de potassium		Chlorure de cuivre		Sulfate de cuivre ammoniacal	
λ	Transparence	λ	Transparence	λ	Transparence
675	99,9	584	3,4	538	3,4
625	93,0	567	13,5	526	8,3
598	79,5	553	30,2	513	22,1
583	52,5	537	56,3	493	37,2
520	30,0	512	52,5	485	76,1
553	16,4	492	48,0	450	98,0
539	0,12	477	26,9		
		470	7,05		
		460	3,97		

Les trois régions limitées par ces écrans sont :

1° Une région rouge à partir de 560$^{m}\mu$;

2° Une région verte de 560 à 460$^{m}\mu$;

3° Une région violette à partir de 460$^{m}\mu$.

41. Mesure de la vitesse d'assimilation. — La nécessité de connaître le spectre d'absorption de la chlorophylle dans les leucites mêmes imposait d'étudier l'assimilation sur des végétaux assez minces pour se prêter à un examen direct : le thalle d'une Algue verte, *Ulva lactuca*, remplit parfaitement cette condition ; il présente en outre l'avantage d'offrir des surfaces lisses assez considérables pour qu'on put y découper des fragments réguliers, d'aire rigoureusement déterminable. Parmi les procédés de mesure de l'assimilation applicables aux plantes submergées, le plus fréquemment employé consiste à compter le nombre de bulles de gaz qui se dégagent sous l'action de la lumière, comme l'imagina Reinke (1884). Sans nier que la méthode des bulles puisse dans certaines conditions rendre de réels services, on ne peut s'y fier dans tous les cas où l'on désire comparer des intensités d'assimilation très différentes. Quand l'assimilation est faible, l'oxygène formé peut se dissoudre entièrement dans l'eau et aucune bulle n'apparaître. C'est sans doute à cette cause qu'est due la surprenante faiblesse de l'assimilation en lumière verte, constatée par Kniep et Minder dans leurs expériences et que nous avons déjà signalée.

Blackman et Smith (1911) ont imaginé une méthode beaucoup plus sûre. Elle consiste à utiliser un courant constant d'eau chargée de CO^2 qui baigne la plante étudiée. On dose la teneur en CO^2 de l'eau avant et après le contact avec la plante ; on retranche de cette différence la quantité de CO^2 trouvée dans le gaz qui se dégage de l'eau sous forme de bulles. Enfin on ajoute le CO^2 calculé pour la respiration. On a ainsi la mesure de l'assimilation.

Cette méthode excellente présentait toutefois le gros inconvénient d'exiger un dispositif compliqué, difficile à se procurer dans un laboratoire maritime. La méthode que nous avons employée consiste à doser le CO^2 disparu par un procédé colorimétrique imaginé par Osterhout et Haas (1918). Il repose sur l'observation suivante : Loeb et Osterhout remarquèrent que certaines algues marines, quand elles sont exposées à la lumière, rendent l'eau de mer plus alcaline. Les plantes enlèvent aux bicarbonates une certaine quantité de CO^2, la teneur en carbonates augmente, et avec elle la concentration en ions HO^- de l'eau de mer.

Pour mesurer le degré d'alcalinité, on additionne l'eau de mer d'une trace d'indicateur : 10 gouttes de solution alcoolique saturée de phénolphtaléine pour un litre d'eau de mer. On peut ajouter l'indicateur soit au début des expériences, soit après l'exposition. Osterhout et Haas n'ont vu aucune modification due à l'indicateur dans la marche de l'assimilation. Il est donc plus simple d'ajouter la phénolphtaléine au début ; il suffit alors de noter le temps nécessaire pour atteindre un virage déterminé ; on a directement un chiffre inversement proportionnel à la vitesse de l'assimilation.

Pratiquement, les expériences étaient disposées de la façon suivante : sur une Ulve, recueillie autant que possible le jour même, n'ayant en tout cas pas séjourné plus de 24 heures dans l'aquarium, on découpe trois fragments d'égale surface (1 cm. $\times$ 3 cm.). Ces fragments sont frottés sous un courant d'eau de mer pour détacher de la surface les algues microscopiques qui pourraient y être fixées, puis disposés dans des tubes de verre remplis d'eau de mer phtaléinée et soigneusement bouchés. On place ces tubes dans une boîte percée de fenêtres devant lesquelles ont été posés les écrans. Et le tout est exposé à la lumière *diffuse*, afin d'éviter l'échauffement et l'excès de lumière qui tuent rapidement les Ulves. Un tube de verre identique à ceux qui contiennent les fragments de thalle est rempli d'eau de mer phtaléinée légèrement alcalinisée : il sert d'étalon. On note les temps au bout desquels les différents tubes atteignent une coloration identique. Avant et après chaque expérience on prend la température de l'eau de mer et l'on s'assure qu'elle n'a pas subi de variation appréciable.

On sait que les lumières de différentes couleurs agissent différemment sur la respiration. Bien que les quantités de CO^2 dégagé par la respiration soient une faible fraction (environ 1/10) du CO^2 absorbé dans le phénomène de photosynthèse, il était nécessaire de s'assurer que cet effet était véritablement négligeable. Pour cela trois tubes contenant chacun un fragment d'Ulve, de l'eau de mer phtaléinée légèrement alcaline (1) et une goutte de chloroforme, étaient placés devant les écrans

(1) Il suffisait de prendre de l'eau de mer phtaléinée, contenant un fragment de thalle, et de l'exposer pendant quelque temps au soleil.

rouge, vert et violet. Après 7 heures d'exposition à la lumière, le tube exposé à la lumière violette présentait une coloration légèrement plus faible que les deux autres ; cette expérience vérifiait le fait connu que la respiration est moins ralentie par les radiations les plus réfrangibles. Elle montrait en même temps que l'on n'aurait pas à tenir compte de cet effet, les durées d'exposition en lumière violette et rouge n'ayant jamais excédé 4 heures.

42. **Mésure de l'énergie incidente.** — Pour mesurer l'énergie incidente traversant chaque écran, la méthode la plus simple eût consisté, comme il avait été fait dans les expériences décrites au chapitre III, à employer une pile thermo-électrique. Mais pour ces nouvelles recherches, effectuées au laboratoire de Roscoff, je n'ai pu disposer de l'installation nécessaire. J'ai eu recours à un procédé indirect, mais non moins précis : j'ai utilisé comme actinomètre la réaction produite par la lumière sur les solutions de chlorophylle, réaction dont la cinétique avait été déjà étudiée. Pour les trois régions spectrales découpées par les écrans, on sait quelle sera la vitesse de destruction d'une solution acétonique de chlorophylle de concentration donnée, en fonction de l'énergie incidente. En effet nous avons vu (§ 32 et 33) que pour les énergies incidentes :

Rouge	Vert	Violet
300	17	32

les vitesses de destruction d'une solution à 0 gr. 02 0/00 étaient respectivement :

	45	1,25	30
soit	$\frac{P_o}{6,57}$	$\frac{P_o}{13,6}$	$\frac{P_o}{1,06}$

P_o étant la puissance incidente de chaque faisceau coloré.

En même temps que la mesure de vitesse de l'assimilation, on faisait une détermination de vitesse de destruction de la solution acétonique de chlorophylle. Cette solution était placée dans des cuves à faces parallèles de 1 cm. d'épaisseur, à

l'intérieur d'une boîte percée de fenêtres munies d'écrans identiques à ceux interposés devant les algues.

La solution était préparée à l'aide d'une solution plus concentrée conservée à l'obscurité. Au moment de l'expérience on l'amenait, par dilution avec de l'acétone, à avoir pour $\lambda = 670^{m\mu}$ une constante d'absorption égale à $K = 0{,}460$.

43. Détermination du spectre d'absorption de la chlorophylle dans les leucites. — Cette détermination présente de grosses difficultés. Faute de les avoir vaincues, la suggestion de Jamin, reprise par Becquerel et par Lommel, que les radiations qui agissent le plus activement dans l'assimilation sont celles qui sont le plus absorbées par la chlorophylle, n'a pu être jusqu'ici soumise à une vérification expérimentale satisfaisante.

Il faut en effet obtenir avec exactitude le spectre d'absorption de la chlorophylle dans les leucites. D'abord parce que ce spectre peut différer — et nous verrons qu'il diffère — de celui des solutions de chlorophylle ; de plus, comme la loi d'absorption est exponentielle, le rapport de l'énergie absorbée dans deux régions spectrales A et B ne dépend pas seulement du rapport des constantes d'absorption mais aussi de leurs valeurs absolues dans ces deux régions. Si dans la région A l'absorption est si forte que, pour une concentration donnée, la presque totalité du rayonnement est absorbée, pour une concentration plus élevée l'énergie absorbée dans cette région n'augmentera plus tandis que dans la région B elle continuera à s'accroître. Ainsi le rapport des énergies absorbées variera. Il importait donc de connaître l'absorption K de la chlorophylle *in vivo* pour les diverses radiations. On ne pouvait pour cela utiliser, comme le fit Timiriazeff, les données obtenues par la spectrophotométrie des solutions de chlorophylle. Les expériences suivantes prouvent à quel point ces données sont inutilisables.

Nous avons comparé l'absorption de la chlorophylle dans une feuille à celle d'une solution de cette chlorophylle ayant par centimètre carré même teneur en pigment qu'un centimètre carré de feuille. Pour éviter la cause d'erreur due au déplacement des bandes, les mesures étaient effectuées au maximum même, à $670^{m\mu}$ pour la solution, à $680^{m\mu}$ pour la

feuille. Les déterminations furent faites avec un spectrophotomètre de Hufner à très faible dispersion, mais à très grande luminosité. Nous procédions de la façon suivante :

Une feuille (*Spinacia oleracea*) est placée entre deux plaques de verre devant la fente supérieure du spectrophotomètre. Devant la fente inférieure, on interpose des lames de gélatine serrées également entre deux plaques de verre et en nombre suffisant pour compenser dans la région verte ($\lambda = 540^{m}\mu$) l'absorption non sélective de la feuille due aux pertes par réflexion sur les membranes et les granules rencontrés par la lumière. La chlorophylle n'absorbant que très faiblement au voisinage de $540^{m}\mu$, la perte de lumière mesurée au spectrophotomètre pour cette longueur d'onde représentait les pertes par réflexion. Nous admettions que cette perte était égale pour 540 et $680^{m}\mu$. Des mesures faites sur des thalles décolorés d'Ulve montrent qu'il en est bien ainsi ; dans cet intervalle relativement étroit de longueurs d'onde, l'inégalité de diffusion des diverses radiations est négligeable relativement aux absorptions (1) mesurées. C'est ainsi que nous avons trouvé :

$\lambda =$	643	567	538	477	460	447
K =	1,10	0,95	0,99	1,01	0,99	1,01

Le tableau suivant donne d'une part les absorptions de la

TABLEAU XX.

Absorption dans la feuille	Absorption en solution acétonique
60	120
65	144
64	142
63	140
64	130
60	124

(1) L'*absorption* K, dans toutes les mesures qui suivent, est définie par la relation $I = I_0.10^{-K}$.

feuille pour $\lambda = 680^{m\mu}$; d'autre part les absorptions de la solution équivalente de chlorophylle dans l'acétone, pour $\lambda = 670^{m\mu}$; on voit qu'une même quantité de chlorophylle absorbe beaucoup plus à l'état dissous que dans les chloroleucites.

Un phénomène analogue peut être observé quand on fixe de la chlorophylle colloïdale sur une pellicule de collodion. C'est ainsi que nous avons trouvé comme moyennes de 5 expériences :

TABLEAU XXI.

Absorption par la pellicule	Absorption en solution dans l'éther
57	64
56	65
55	64
56	64

Au contraire la chlorophylle fixée sur du collodion par simple dissolution donne la même absorption que dissoute dans l'éther :

TABLEAU XXII.

Absorption par la pellicule	Absorption en solution dans l'éther
63	64
63	63
62	61
60	62

Il était donc indispensable de procéder à une détermination directe de l'absorption. Les feuilles ordinaires ne conviennent

pas à cause de leur épaisseur relativement considérable. Si la mesure spectrophotométrique est encore possible dans le rouge, comme nous venons de le montrer, elle est impraticable à partir du bleu. C'est pourquoi nous nous sommes adressés à un matériel beaucoup plus pratique : *Ulva lactuca*, algue verte constituée seulement par deux assises de cellules et dont l'épaisseur ne dépasse pas le 1/10 de millimètre.

Le procédé qui nous a paru le plus sûr (1) a consisté dans la comparaison spectrophotométrique d'un thalle normal à un thalle complètement décoloré par une exposition d'une dizaine d'heures au soleil. Les mesures ont été faites par M. Vlès et moi, à l'aide d'un spectrophotomètre de Glan, en collant sur une plaque de verre, l'un au-dessous de l'autre, les deux thalles à comparer. Les résultats des mesures sont indiqués dans le tableau XXII qui donne l'absorption de la totalité des pigments

TABLEAU XXIII.

λ	K	λ	K
736	0,08	580	0,02
705	0,18	560	0,01
690	0,31	550	0,02
675	0,35	530	0,02
664	0,24	520	0,05
649	0,17	492	0,28
640	0,12	476	0,25
634	0,12	461	0,31
630	0,10	450	0,34
619	0,07	440	0,61
590	0,02	431	0,45

(chlorophylle + lipochromes) tels qu'ils existent dans les leucites.

(1) Un procédé souvent employé pour connaître l'absorption de la chlorophylle dans les leucites, consiste à se servir d'une feuille panachée, et à comparer une partie blanche et une partie verte. Mais les différences de structure entre les deux régions mesurées rendent incertaine cette méthode. Il y a intérêt à diminuer le plus possible l'importance de la perte de lumière à travers les tissus incolores, ce qui est réalisé quand on opère sur des thalles très minces.

La courbe en trait plein de la figure XIII représente ce spectre d'absorption. On y voit bien dans la région rouge ($\lambda = 680^{m}\mu$) la bande I de la chlorophylle ; mais on y remarque trois autres bandes, l'une à $492^{m}\mu$, l'autre à $460^{m}\mu$ (indiquée par un point d'inflexion), la troisième à $440^{m}\mu$. Le spectre des solutions de chlorophylle (fig. IX) ne présente dans cette région qu'une forte bande à $430^{m}\mu$. Par contre les lipochromes ont trois bandes qui, en solution dans l'alcool, sont situées, pour la carotine comme pour la xanthophylle, au voisinage de 480, 450 et $425^{m}\mu$. On sait, depuis les observations de KUNDT, que les

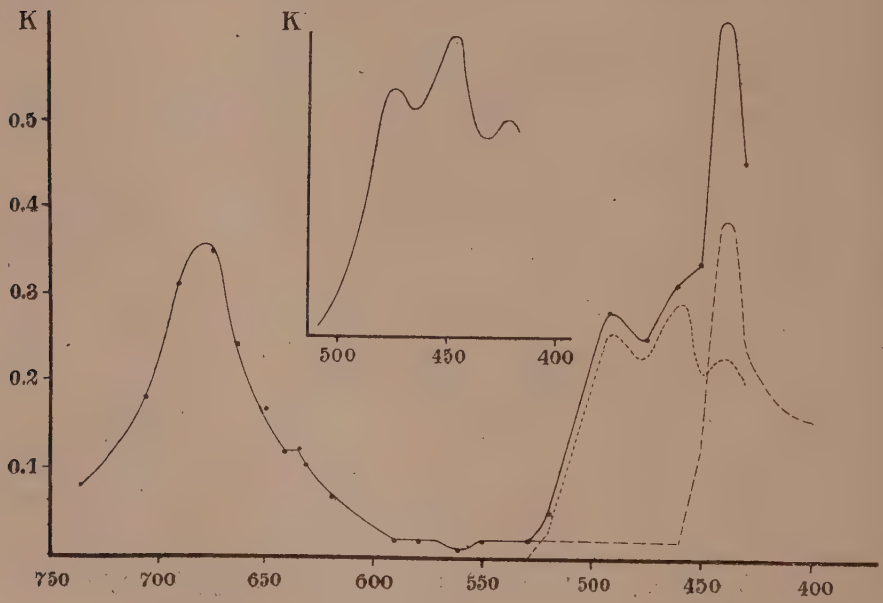


Fig. XIII.

maxima d'absorption sont déplacés vers le rouge quand l'indice de réfraction du solvant augmente. Cette règle de KUNDT paraît vérifiée chaque fois que le corps dissous n'existe pas dans le solvant sous un état particulier d'agrégation. Il est donc vraisemblable que le maximum d'absorption trouvé à $492^{m}\mu$ correspond aux bandes I de la carotine et de la xanthophylle qui sont situées au voisinage de $480^{m}\mu$ dans un liquide tel que l'alcool, moins réfringent que la substance des chloroleucites. De même

le point d'inflexion trouvé à $460^{m\mu}$ correspond aux bandes II des lipochromes situées vers $450^{m\mu}$ dans l'alcool. Enfin les bandes III de ces lipochromes ($\lambda = 425^{m\mu}$ dans l'alcool) seraient superposées au maximum de la chlorophylle, à $430^{m\mu}$. J'ai indiqué à la partie supérieure de la figure XIII le spectre d'absorption de la carotine en solution dans l'éther de pétrole que M. Vlès a bien voulu me communiquer. On retrouve ce spectre (en pointillé) à la partie inférieure de la figure. Celui de la chlorophylle est obtenu par différence : le tableau suivant donne les valeurs de l'absorption de la chlorophylle *in vivo*, tirées de cette courbe.

TABLEAU XXIV.

λ	K	λ	K
736	0,08	580	0,02
705	0,18	560	0,01
690	0,31	550	0,02
675	0,35	530	0,02
664	0,24	520	0,02
649	0,17	460	0,02
640	0,12	450	0,13
634	0,12	440	0,38
630	0,10	430	0,24
619	0,07	400 +	0,16 +
590	0,02	+ valeurs extrapolées	

Lorsque l'on compare le spectre d'absorption ainsi obtenu à celui de la solution acétonique de chlorophylle, on voit immédiatement que non seulement les maxima sont déplacés vers les grandes longueurs d'onde de $10^{m\mu}$ environ, mais que le rapport des deux bandes principales est lui-même modifié. Tandis que le maximum dans le violet (à $430^{m\mu}$) est pour la solution acétonique trois fois plus grand que le maximum dans le rouge (à $675^{m\mu}$), on a pour la chlorophylle *in vivo* :

$$\frac{\text{maximum à } 740^{m\mu}}{\text{maximum à } 680^{m\mu}} = \frac{38}{35,5} \text{ soit } 1,06.$$

Un tel fait n'est pas nouveau. Sheppard (1909) a déjà signalé que les solutions aqueuses de certains colorants-isocyaniues,

pinacyanols, cyanine — qui sont à l'état colloïdal, ont un spectre tout à fait différent de celui des solutions vraies.

Les valeurs de K tirées du spectre d'absorption permettent de calculer pour chaque longueur d'onde le pourcentage A_λ de l'énergie incidente qui est absorbée par la chlorophylle. On a en effet, entre l'intensité I_o de la lumière qui tombe sur la surface du thalle et l'intensité I de la lumière qui émerge de l'autre côté la relation :

$$I = I_o\, 10^{-K}$$

on en déduit la valeur de la transparence T :

$$T = \frac{I}{I_o} = \frac{1}{10^K}$$

et :

$$A = \frac{I_o - I}{I_o} = 1 - T.$$

Le tableau XXV donne les résultats du calcul, A étant exprimé en 0/0 de l'énergie incidente.

TABLEAU XXV.

λ	A_λ en p. 100	λ	A_λ en p. 100
736	18	580	5
705	35	560	3
690	52	550	5
675	56	530	5
664	43	520	5
649	34	492	5
640	25	476	5
634	25	461	5
630	21	450	26
619	16	440	59
590	5	430	43
		400	31

44. **Marche des expériences.** — Les tubes de verre contenant les fragments de thalle et l'eau de mer additionnée, par litre, de 10 gouttes de solution alcoolique saturée de phénolphtaléine, sont placés derrière les écrans, dans des boîtes percées de fenêtres. On compare de 10 minutes en 10 minutes la coloration des tubes à celle d'un témoin. On note le temps t nécessaire pour atteindre ce virage.

En même temps on détermine la puissance incidente P_o de la lumière qui traverse chaque écran, en lisant au spectrophotomètre la variation $(K_2 - K_1)$ de la solution actinométrique. Le

TABLEAU XXVI.

Nos des Expériences	Lumière rouge			Lumière verte			Lumière violette		
	$K_2 - K_1$	P_o	t	$K_2 - K_1$	P_o	t	$K_2 - K_1$	P_o	t
1	0,015	100	120	0,004	54	500	0,075	80	150
2	0,015	100	120	0,004	54	—	0,080	85	160
3	0,021	140	105	0,005	68	500	0,105	111	135
4	0,018	120	150	0,005	68	560	0,078	83	230
5	0,015	100	115	0,004	54	500	0,076	80	155
6	0,013	87	100	0,003	41	490	0,057	60	140
7	0,016	107	150	0,004	54	550	0,061	65	250
8	0,015	100	120	0,004	54	570	0,076	80	150
9	0,017	113	120	0,003	41	600	0,061	65	240
10	0,016	107	150	0,004	54	620	0,080	85	190

tableau XXVI porte les chiffres trouvés dans 10 expériences faites aux mois d'août et de septembre, au laboratoire de Roscoff. La température n'est pas indiquée dans ces données. En effet

TABLEAU XXVII.

Nos des Expériences	Lumière rouge		Lumière verte		Lumière violette	
	vitesse	$v : P_o$	vitesse	$v : P_o$	vitesse	$v : P_o$
1	100	1,0	24	0,44	80	1,00
2	100	1,0	—	—	75	0,88
3	100	1,0	21	0,44	78	0,99
4	100	1,0	27	0,47	65	0,94
5	100	1,0	23	0,43	74	0,93
6	100	1,0	20	0,43	71	1,03
7	100	1,0	27	0,54	60	0,99
8	100	1,0	21	0,39	80	1,00
9	100	1,0	20	0,54	50	0,88
10	100	1,0	24	0,48	80	1,00

nous nous sommes assurés qu'elle était toujours, du début à la fin de l'expérience, identique dans les trois tubes à comparer.

Le fait que l'exposition avait lieu à la lumière diffuse, à l'intérieur du laboratoire, rendait aisée cette égalité thermique indispensable (1).

On déduit de ces chiffres les vitesses relatives v et le rapport de ces vitesses aux énergies incidentes P_o exprimées également en valeurs relatives (Tableau XXVII).

Ce dernier tableau montre que nos expériences sont remarquablement concordantes, bien que les conditions d'égalité des surfaces découpées, d'homogénéité des thalles, de constance de la lumière du jour, soient nécessairement très difficiles à réaliser.

45. **Assimilation et énergie incidente.** — Un premier résultat que les chiffres précédents mettent en valeur, c'est l'égalité d'action de la lumière violette et de la lumière rouge sur l'assimilation. Nous obtenons ici la confirmation d'une partie des expériences de Kniep et Minder. Par contre, l'assimilation a encore lieu dans le vert, sinon aussi activement, du moins dans une mesure très importante. Kniep et Minder n'avaient trouvé aucune assimilation entre $\lambda = 524^{m\mu}$ et $\lambda = 512^{m\mu}$. Nous obtenons entre $\lambda = 580^{m\mu}$ et $\lambda = 460^{m\mu}$ une assimilation qui, à énergie incidente égale, est moitié moindre de l'assimilation maxima dans les régions violette et rouge du spectre. Nos chiffres concordent entièrement avec ceux de Timiriazeff, si dignes de confiance.

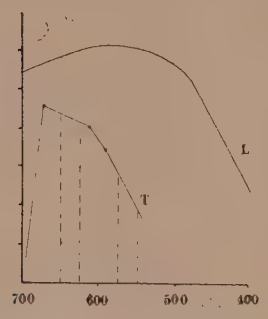


Fig. XIV. — T, intensité de l'assimilation d'après Timiriazeff. L, répartition de l'énergie dans le spectre solaire, d'après Langley.

Reportons-nous à la courbe classique de Timiriazeff (fig. XIV). Les ordonnées sont proportionnelles à l'intensité de l'assimilation. Si nous découpons deux surfaces, l'une entre 625 et $630^{m\mu}$, l'autre entre 550 et $575^{m\mu}$ limitées par la courbe de Timiriazeff et l'axe des abscisses, ces surfaces seront proportionnelles aux quantités de CO^2 réduites par les rayonnements ($625 - 560^{m\mu}$) et ($550 - 575^{m\mu}$).

(1) Le coefficient de température de l'assimilation chlorophyllienne est voisin de 2 pour 10°.

Or ces surfaces sont dans le rapport de 2 à 1. Comme la répartition de l'énergie dans le spectre solaire est telle, d'après LANGLEY, que pour ces deux groupes de radiations l'énergie est sensiblement égale, on voit que le résultat auquel nous sommes parvenu est tout à fait conforme à celui que l'on peut déduire des mesures de TIMIRIAZEFF.

Si les résultats de KNIEP et MINDER sont exacts, la courbe d'assimilation ne s'annulerait en tout cas qu'au voisinage de $520^{m}\mu$, dans un très petit intervalle de longueurs d'onde.

46. **Le maximum d'Engelmann.** — L'égalité du pouvoir assimilateur des lumières violette et rouge, à énergie incidente égale, établit nettement l'existence possible du second maximum d'ENGELMANN. Il sera ou ne sera pas, suivant l'intensité relative des radiations les plus réfrangibles dans la source de rayonnement. Pour qu'il apparaisse, il faut que l'énergie des radiations de longueurs d'onde comprises entre $460^{m}\mu$ et $400^{m}\mu$ soit telle que l'assimilation produite dépasse l'assimilation dans le vert. C'est le cas pour le spectre solaire direct, mais surtout pour la lumière diffusée par le ciel. Ce ne l'est plus pour les sources artificielles telles par exemple que les puissantes lampes 1/2 watt utilisées par WILLSTÆTTER et STOLL (1918). Et l'on conçoit que ces auteurs n'aient pas trouvé de différence appréciable dans l'assimilation, lorsqu'ils interposaient ou non un écran de bichromate de potassium.

47. **Détermination de l'énergie absorbée.** — Nous connaissons l'énergie incidente qui traversait chaque écran. Nous connaissons le pouvoir absorbant de la chlorophylle (Tab. XXV) pour chaque longueur d'onde. Nous disposons donc de tous les éléments pour calculer l'énergie de chaque sorte de lumière absorbée par le pigment. Puisque les rapports $\frac{v}{P_o}$ du tableau XXVII sont très voisins les uns des autres, nous ferons le calcul pour une seule expérience (n° 10). On multipliera donc les pouvoirs absorbants A_λ, pour chaque longueur d'onde, par l'énergie incidente moyenne P_o correspondante (Tableau XXVIII).

Portant les valeurs de $A_\lambda.P_o$ en ordonnées on trace une courbe qui limite une surface proportionnelle à l'énergie absorbée. On trouve ainsi que :

1° Entre 750 et 560$^{m\mu}$ l'énergie absorbée est égale à 100 ;
2° Entre 560 et 460$^{m\mu}$ l'énergie absorbée est égale à 6 ;
3° Entre 460 et 375$^{m\mu}$ l'énergie absorbée est égale à 49.

TABLEAU XXVIII.

Lumière rouge			Lumière verte			Lumière violette		
λ	A_λ	$P_o A_\lambda$	λ	A_λ	$P_o A_\lambda$	λ	A_λ	$P_o A_\lambda$
736	0,18	18	560	0,03	1,5	461	0,05	4
705	0,35	35	550	0,05	2,5	450	0,26	20,8
690	0,52	52	530	0,05	2,5	440	0,59	47,2
675	0,56	56	520	0,05	2,5	430	0,43	34,4
664	0,43	43	492	0,05	2,5	400	0,31	24,8
649	0,34	34	476	0,05	2,5			
640	0,25	25	461	0,05	2,5			
634	0,25	25						
630	0,21	21						
619	0,16	16						
590	0,05	5						
580	0,05	5						
560	0,03	3						

Dans cette dernière région du spectre, l'absorption de la lumière par les lipochromes mélangés à la chlorophylle diminue notablement la quantité d'énergie effectivement absorbée par la chlorophylle. Nous avons vu au Chapitre précédent (§ 36) que la diminution a lieu dans le rapport de $\frac{820}{570}$ soit 1,44. On a donc finalement comme valeur de l'énergie absorbée dans la région violette $\frac{49}{1,44}$ soit 34.

D'où les résultats suivants, exprimés en valeurs arbitraires :

TABLEAU XXIX.

	Lumière rouge	Lumière verte	Lumière violette
Assimilation $= v$ . .	100	24	80
Energie absorbée $= P_a$.	100	6	34
Rendement $= v : P_a$.	1,0	4,00	2,35

48. **Assimilation et énergie absorbée.** — Ainsi le rendement le plus élevé (4,00) est atteint dans la région verte qui est une région de minimum d'absorption. Il apparaît de suite que la conception de JAMIN, de BECQUEREL, de LOMMEL suivant laquelle existait une relation simple entre l'absorption et le pouvoir assimilateur de la chlorophylle doit être rejetée.

Non seulement une telle relation simple n'existe pas, mais, d'après tout ce que nous avons vu dans le chapitre premier de ce travail, la découverte d'un maximum de susceptibilité photochimique dans une région où la chlorophylle absorbe le moins, implique que le bilan gazeux qui résume la photosynthèse ne dépend pas d'une réaction photochimique portant sur le seul pigment. Ou bien il existe un corps, absorbant les radiations vertes sélectivement, qui intervient dans la réaction photochimique — mais on ne voit pas jusqu'à présent de quel corps il pourrait s'agir — ou bien, dans le processus complexe de l'assimilation, entre en jeu un facteur dont l'importance augmente dans les régions de faible absorption.

Considérons 3 faisceaux lumineux, d'énergie égale P_0, l'un rouge, le deuxième vert et le troisième violet. Ces rayonnements tombent respectivement sur 3 portions d'égale surface (1 cm²) découpées dans un chloroleucite (fig. XV).

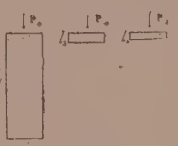


Fig. XV.

Supposons qu'une quantité donnée de rayonnement vert, 1 erg par exemple, soit absorbée pendant 1 seconde dans une épaisseur l_1 de chloroleucite. La même quantité d'énergie, c'est-à-dire 1 erg, mais, cette fois, de rayonnement rouge sera absorbée par une épaisseur l_2 beaucoup plus petite, exactement égale à :

$$l_1 \frac{K_1}{K_2}$$

si K_1 est la constante d'absorption du leucite dans le vert et K_2 la valeur de cette constante dans le rouge. On aurait de même 1 erg de rayonnement violet absorbé dans une épaisseur :

$$l_3 = l_1 \frac{K_1}{K_3} ;$$

Ainsi donc le volume dans lequel sera contenu 1 erg de

rayonnement absorbé sera inversement proportionnel à la constante d'absorption du chloroleucite pour ce rayonnement. Il sera donc maximum au voisinage du minimum d'absorption, dans la partie verte du spectre, où les bandes de la chlorophylle sont faibles.

Or les expériences que nous avons décrites au chapitre II, tous les faits exposés d'autre part par Blackman nous ont conduit à penser, que l'élément actif de la réduction de CO^2, est, non pas le granule chlorophyllien, mais le protoplasme incolore au sein duquel il se trouve. Nous nous sommes fait du processus de l'assimilation l'image suivante. Une certaine réaction :

$$A + \text{lumière} \longrightarrow A' - X \text{ cal.} \qquad (I)$$

a lieu sous l'action de la lumière en présence de la chlorophylle. Le produit A' est transformé au sein du protoplasme suivant le schéma :

$$A' \longrightarrow A + X' \text{ cal.} \qquad (II)$$

et c'est aux dépens de l'énergie ainsi libérée par cette réaction (II) que le protoplasme réalise la réduction :

$$CO^2 \longrightarrow C + O^2 - 94.300 \text{ cal.} \qquad (III)$$

Nous supposerons, en première approximation, que la réaction (I) procède conformément aux réactions ordinaires, suivant la loi d'absorption photochimique ; c'est-à-dire que la quantité de corps A' formée dans l'unité de temps est proportionnelle à la quantité d'énergie absorbée. Mais l'assimilation ne dépend pas seulement de la concentration du corps A', celui-ci doit être transformé par le protoplasme. Il se peut que cette transformation (II) n'ait lieu qu'à la surface des leucites où accède le gaz carbonique, ou qu'elle soit fonction de la masse du protoplasme (1). Or cette masse, pour une énergie absorbée donnée est inversement proportionnelle à la constante d'absorption. Ainsi la vitesse d'assimilation sera d'autant plus grande que la constante d'absorption sera plus faible. Il se peut aussi que l'aptitude du protoplasme à utiliser le produit A' pour le

(1) La vitesse d'assimilation serait de la forme : $v = C^{te}.P_a.f(M)$, M étant la masse du protoplasme.

transformer suivant l'équation (II) soit limitée : dans les régions du spectre fortement absorbées, les couches superficielles contiendraient alors un excès du corps A' inemployé. De l'énergie absorbée serait en fin de compte inutilisée et, dans ce cas encore, le rendement serait maximum dans les régions du spectre où les bandes de la chlorophylle sont les moins intenses.

Nous avons supposé, en première approximation, que la réaction de base (I) qui a lieu au contact de la chlorophylle procédait suivant la loi d'absorption photochimique. Dans ce cas on devrait trouver un rendement égal pour les régions violette et rouge du spectre où les absorptions sont très voisines, où par conséquent, le facteur protoplasmique a la même valeur. On a en effet :

$$K = 0{,}35 \text{ pour } \lambda = 680^{m\mu} \qquad K = 0{,}38 \text{ pour } \lambda = 440^{m\mu}$$

On ne doit donc pas s'attendre pour ces deux régions à des différences de rendement dues, comme pour la région verte à l'intervention du volume de protoplasme actif. Or nous avons obtenu les rendements :

$$\frac{v}{P_a} = 1{,}0 \text{ pour la région rouge ; } \frac{v}{P_a} = 2{,}35 \text{ pour la région violette.}$$

Rappelons-nous maintenant que la seule transformation photochimique que l'on ait su mettre en évidence dans la molécule de chlorophylle, c'est-à-dire sa photo-oxydation, se comporte tout autrement sous l'action des différentes radiations. Nous avons vu (§ 34) qu'à énergie absorbée égale les rayons violets et rouges sont également actifs. Nous devons donc conclure que le corps A directement sensible à la lumière, dans la photosynthèse, n'est pas le seul pigment, et nous sommes amené à examiner si la chlorophylle n'intervient pas dans l'assimilation simplement à la manière d'un sensibilisateur.

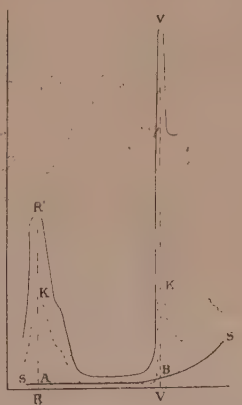


Fig. XVI.

Dans ce cas, nous devons nous attendre, d'après ce qui a été dit (Chapitre I, § 7) à trouver précisément un meilleur rendement dans la

la région violette que dans la région rouge. En effet le corps A sur lequel porte réellement la réaction doit être incolore dans le visible et posséder un maximum d'absorption dans l'ultraviolet. La susceptibilité photochimique de la réaction I doit donc augmenter à mesure que diminue la longueur d'onde, par exemple suivant une courbe SS′ (fig. XVI). La chlorophylle accélère sélectivement cette réaction, c'est-à-dire que les ordonnées de la courbe SS′ sont multipliées par un terme proportionnel, pour chaque longueur d'onde, à la constante d'absorption de la chlorophylle. On obtient ainsi la courbe R′V′ qui représente la susceptibilité de la réaction I catalysée par la chlorophylle. Il est clair que si l'on compare les ordonnées RR′ (rouge) et VV′ (violet) on aura :

$$\frac{VV'}{RR'} = \frac{VB}{RA} \times \frac{K'}{K}$$

K et K′ étant respectivement les constantes d'absorption de la chlorophylle dans les régions rouge et violette du spectre et par conséquent :

$$\frac{VV'}{RR'} > \frac{K'}{K}$$

ce qui représente bien les résultats de nos expériences.

Nous avons fait un pas nouveau dans l'étude du mécanisme de l'assimilation chlorophyllienne. Dans le chapitre II nous avions montré comment la réduction du gaz carbonique, tout au moins le dégagement d'oxygène, ne se fait pas au contact des granules chlorophylliens, mais au sein même du protoplasme, et que la réaction photochimique effective ne porte pas sur le gaz carbonique. Nous trouvons maintenant que cette réaction ne porte pas non plus sur la chlorophylle, au moins directement, et que le pigment sensibilise seulement cette réaction. Cette fois-ci, nous nous écartons davantage des conceptions que l'on se fait ordinairement du mécanisme de la photosynthèse. Les théories jusqu'ici soutenues font intervenir dans ce mécanisme une action de la lumière sur le système gaz carbonique-chlorophylle ; les plus récentes ajoutent une action secondaire, d'origine diastasique, afin de rendre compte de l'échec des tentatives faites pour réaliser *in vitro* l'assimilation chlorophyllienne, et des analogies qui existent entre l'influence de la tem-

pérature sur ce phénomène et sur les actions diastasiques (Blackman, 1905).

Dans les hypothèses les plus simples, la chlorophylle intervient comme un sensibilisateur optique pour permettre aux radiations du spectre visible d'effectuer des transformations qui n'ont, en l'absence de pigment, de vitesse sensible que dans l'ultra-violet. On sait que sous l'influence des effluves électriques — qui agissent sans doute par le rayonnement de grande fréquence qu'elles émettent — Löb (1905) a pu obtenir à partir du gaz carbonique humide, la formation d'aldéhyde formique et même d'un produit de condensation de cette aldéhyde formique, la glycol aldéhyde : $CHO.CH^2OH$. Au moyen des rayons ultra-violets, Herchfinkel, dès 1909, a réussi la dissociation de CO^2 en CO et O^2, puis la synthèse de l'aldéhyde formique a été effectuée à partir de l'oxyde de carbone et de l'hydrogène par D. Berthelot et Gaudechon (1910), à partir du gaz carbonique et de l'hydrogène par Stoklasa et Zdobnicky (1910), à partir d'une solution aqueuse de gaz carbonique par Usher et Priestley (1911). On pouvait donc penser que la chlorophylle déplace vers les grandes longueurs d'onde la sensibilité photochimique du système $CO^2 — H^2O$, à la manière des sensibilisateurs employés pour l'orthochromatisation des plaques photographiques et qui étendent la sensibilité de ces plaques vers les grandes longueurs d'onde. Mais, d'après nos résultats, il est difficile d'admettre la liaison de CO^2 aux granules chlorophylliens ; on sait d'ailleurs que les radiations les plus voisines du spectre visible, contrairement aux synthèses réalisées par l'ultra-violet extrême, produisent sur les hydrates de carbone des dégradations profondes (1).

D'autres hypothèses font intervenir la chlorophylle à la manière d'un catalyseur chimique. Le rayonnement solaire réalise en présence de certaines substances telles que les sels

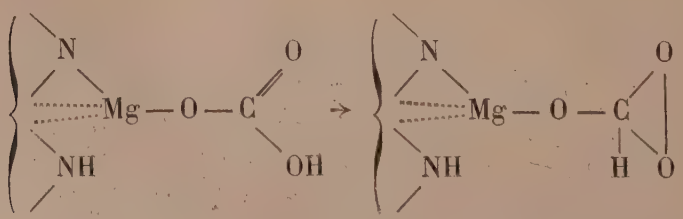
(1) Toute une série de dégradations ont été observées. On en trouvera un exposé assez récent dans le travail de Ranc (1914) : *Contribution à l'étude des actions physiologiques de la lumière*. L'amidon, particulièrement intéressant pour la physiologie végétale, subit des réactions de dédoublement et d'oxydation avec production de dextrines, de sucres réducteurs, de pentoses, d'aldéhyde formique et de corps à fonction acide (Bielecki et Wurmser, 1912).

d'urane (Bach, 1893) et le fer colloïdal (Moore et Webster, 1913), la formation d'aldéhyde formique aux dépens du gaz carbonique et de l'eau. Usher et Priestley (1906-1911) avaient pensé qu'en présence de la chlorophylle la lumière réalise une transformation analogue : production d'aldéhyde formique et de peroxyde d'hydrogène. L'aldéhyde formique serait rapidement polymérisée par le protoplasme du chloroplaste, et le peroxyde d'hydrogène décomposé en eau et oxygène par une catalase. Mais il semble bien résulter des recherches ultérieures, et notamment de celles de Willstætter et Stoll (1918), que la formaldéhyde provient, dans les expériences de Usher et Priestley de la destruction profonde de la molécule de chlorophylle et non d'une synthèse véritable.

Selon Wager (1914) le processus photosynthétique pourrait précisément consister dans cette destruction photochimique de la chlorophylle, dont le gaz carbonique servirait à édifier la molécule. Nous avons déjà dans le chapitre II de ce travail indiqué comment le chlorophylle, en fait, ne se détruit qu'en proportion minime dans les feuilles, ce qui doit faire rejeter la théorie de Wager.

C'est encore sur une union chimique entre la chlorophylle et le gaz carbonique que sont fondées les deux hypothèses par lesquelles nous terminerons cet exposé.

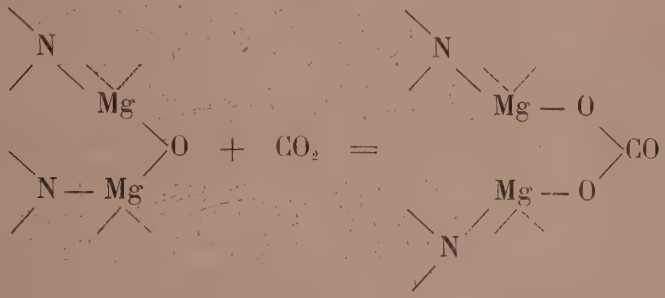
Pour Willstætter et Stoll (1918), la lumière effectue son travail chimique dans la molécule complexe formée par l'addition du gaz carbonique à la chlorophylle. Le travail de la lumière consiste à regrouper les valences de la molécule de gaz carbonique en fournissant un isomère peroxydé.



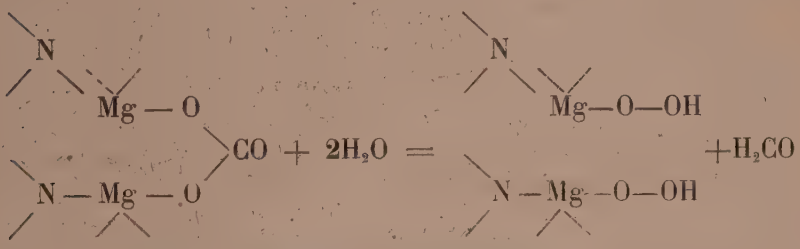
Cet isomère est capable de se décomposer spontanément en libérant de l'oxygène, et cette décomposition est accélérée par la présence d'un enzyme, d'une catalase, existant dans la

feuille. Mais les tentatives faites par Willstætter et Stoll pour mettre en évidence *in vitro* un processus de ce genre n'ont, malgré l'habileté des expérimentateurs, donné aucun résultat.

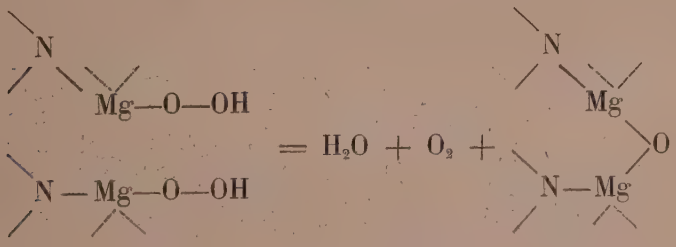
Kuster (1920) a proposé un schéma analogue, en rapport avec la constitution qu'il attribue à la chlorophylle. La chlorophylle serait à l'état bimoléculaire dans les préparations colloïdales et formerait ainsi un sel magnésien basique auquel le gaz carbonique pourrait se combiner :



L'apport d'énergie permet la fixation de deux molécules d'eau et produit de l'aldéhyde formique et un peroxyde magnésien :



Ce peroxyde reproduit la molécule initiale de chlorophylle en libérant de l'eau et de l'oxygène :



Ces théories, malgré les belles recherches de Willstætter et Stoll, ne paraissent avoir actuellement d'autre base expérimentale que la formation du produit d'addition de CO^2 avec la chlorophylle colloïdale, formation qui est empêchée, nous l'avons vu, dans les leucites, par les colloïdes du stroma.

Si, comme nous pensons l'avoir montré, la réaction photochimique de l'assimilation (réaction I) ne porte pas sur la chlorophylle mais sur un corps A qu'elle sensibilise, pourrons-nous aller plus loin et préciser la nature de ce corps ? On remarquera :

1° Que l'on trouve toujours des sels de fer dans la partie incolore du chloroplaste (Moore, 1914) ;

2° Que la présence d'oxygène est nécessaire, au moins en petite quantité, pour que la photosynthèse puisse s'établir (Willstætter et Stoll, 1918).

La réaction (I) pourrait être une réduction analogue à la réduction photochimique bien connue de l'oxalate ferrique et la réaction (II) l'oxydation de l'oxalate ferreux. Comme il semble que certaines bactéries savent faire de la matière organique aux dépens de l'énergie fournie par l'oxydation du fer, l'assimilation chlorophyllienne ne serait qu'un cas particulier de cette chemosynthèse.

Cette hypothèse, qui doit être considérée comme une hypothèse de travail pour des recherches ultérieures, précise la différence entre la conception à laquelle nous avons abouti et celle des auteurs qui se sont occupés jusqu'ici de la question et pour lesquels la photosynthèse débute par une combinaison du gaz carbonique avec la chlorophylle.

CHAPITRE V

L'ASSIMILATION CHEZ LES ALGUES ROUGES

49. **La phycoérythrine.** — Certaines algues renferment dans leurs chromatophores un pigment rouge qui masque la chlorophylle. Kutzing (1843) a donné à ce pigment le nom de phycoérythrine. La phycoérythrine intervient-elle dans la photosynthèse ? S'il en est ainsi, quel est son rôle et peut-il nous renseigner sur le mécanisme de l'assimilation ? Telles sont les questions auxquelles nous essaieront de répondre dans ce chapitre.

La constitution de la phycoérythrine est inconnue. On sait seulement depuis les travaux de Hansen (1893) et de Molisch (1894) qu'elle est de nature protéique. Elle a été étudiée particulièrement par Kylin (1910), sur une Floridée *Ceramium rubrum* où elle existe mélangée avec un autre pigment : la phycocyanine. C'est une protéide, constituée par une albumine et un composant coloré. Insoluble dans l'eau pure et les solvants neutres, elle se dissout dans une très petite quantité d'alcali ou de sel neutre et montre les propriétés de solubilité et de précipitabilité des globulines. La chaleur ou des quantités convenables d'acides ou d'alcalis séparent le composant protéique du composant coloré. La pepsine et la trypsine effectuent également cette séparation, et le composant coloré peut être ainsi préparé par digestion, puis extrait par dissolution dans l'alcool amylique.

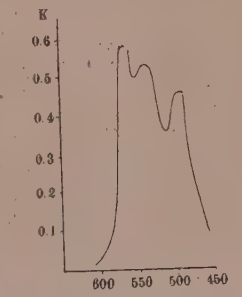


Fig. XVII. — Spectre d'absorption de la phycoérythrine (d'après Kylin).

La phycoérythrine qui est d'un rouge carmin en solution neutre, vire au rouge violet en présence des acides et au jaune

sous l'action des alcalis. Cette dernière réaction peut être mise en évidence sur le thalle lui-même : en touchant un fragment rouge de *Rhodymenia* avec une baguette de verre trempée préalablement dans de la soude, on voit se former une tache verte : la chlorophylle apparaissant à travers la phycoérythrine alcalinisée. Sous sa forme naturelle, rouge carmin, la phycoérythrine absorbe principalement les radiations vertes. Le spectre de la solution aqueuse du pigment pur extrait de *Ceramium rubrum* (fig. XVII) présente trois bandes d'absorption dont les maxima sont à 569 — 565, 541 — 537, et 498 — 492$^{m}\mu$.

50. **Expérience d'Engelmann.** — Engelmann (1883) utilisa sa méthode des bactéries pour étudier la position des maxima de dégagement d'oxygène chez des algues de couleurs diverses. Il vit ainsi chez des algues rouges (*Callithamnion*, *Ceramium*) que le maximum, au lieu d'être situé comme chez les algues vertes entre les raies B et C de Fraunhofer, se trouvaient entre les raies D et E ($\lambda = 570^{m}\mu$ environ). Le pigment rouge semblait donc intervenir dans l'assimilation.

Il était nécessaire de ne pas se contenter de ces résultats d'Engelmann, la méthode des bactéries étant trop indirecte pour permettre d'affirmer que la phycoérythrine joue un rôle dans la photosynthèse. A. v. Richter (1912) reprit la question en dosant chez des algues rouges et vertes exposées en même temps à divers groupes de radiations, l'augmentation de la teneur en oxygène de l'eau, par la méthode de Winkler. Il conclut de ses expériences — que nous discuterons plus loin — que la phycoérythrine ne paraît pas jouer dans l'assimilation des algues rouges de rôle plus important que l'anthocyane chez les plantes supérieures.

Ces contradictions nous ont paru nécessiter de nouvelles expériences.

51. **Dispositif expérimental.** — Nos recherches ont été effectuées en comparant une algue verte, *Ulva lactuca* et une algue rouge *Rhodymenia palmata*. L'assimilation était mesurée par la méthode d'Osterhout et Haas (chapitre IV, § 41). Des fragments de ces algues, ayant des surfaces rigoureusement

égales, sont réparties dans des tubes de verre contenant de l'eau de mer phtaléinée. Un tube contenant un fragment d'*Ulva* et un tube contenant un fragment de *Rhodymenia* sont placés derrière un même écran de bichromate de potassium. On opère de même avec un écran de chlorure cuivrique et un écran de sulfate de cuivre ammoniacal.

On note le temps nécessaire pour atteindre dans chaque tube un virage déterminé de l'indicateur. Toutes les expositions ont été effectuées à la lumière diffuse.

52. **Résultats.** — Le tableau XXX indique les temps nécessaires pour obtenir un même virage. Toutes les lectures ont

TABLEAU XXX.

Ulva lactuca			*Rhodymenia palmata*		
Rouge	Vert	violet	Rouge	Vert	violet
100	415	125	100	200	533
100	400	120	100	150	—
100	420	125	100	200	850
100	410	125	100	230	—
100	400	130	100	270	—
100	420	120	100	200	530
100	420	130	100	200	600
100	415	115	100	190	670
Moy. 100	420	124	100	205	636

été multipliées par un facteur tel que le temps correspondant à l'exposition en lumière rouge soit toujours égal à 100. A

TABLEAU XXXI.

	Lumière rouge	Lumière verte	Lumière violette
Ulva lactuca. . . .	100	24	81
Rhodymenia palmata .	100	49	16

cause de la faiblesse de l'assimilation en lumière violette, un certain nombre de lectures manquent pour cette région du spec-

tre, le virage étalon n'ayant pas été atteint avant le coucher du soleil.

Les valeurs moyennes des temps observés donnent les vitesses d'assimilation moyennes (Tableau XXXI).

Ces chiffres montrent chez l'algue rouge une assimilation relativement très faible dans le violet et très forte dans le vert. On retrouve ici, mis en évidence par un procédé chimique, le déplacement du maximum signalé par Engelmann chez les algues rouges. On remarquera en effet que si l'on tient compte de la répartition de l'énergie dans le spectre solaire, et des valeurs de l'activité photosynthétique pour les trois régions que nous avons étudiées dans le cas de l'Ulve (Tableau XXVII) on trouve les valeurs suivantes de l'assimilation :

TABLEAU XXXII.

	Lumière rouge (580)	Lumière verte (580-460)	Lumière violette (460)
Energie incidente . .	100	96	30
Ulva lactuca. . . .	100	44	30
Rhodymenia palmata .	100	90	6

Le maximum est évidemment déplacé, chez l'algue rouge, de la région rouge vers la région verte, comme l'avait observé Engelmann par sa méthode des bactéries. Il est remarquable que malgré les conclusions contraires qu'il en a tirées, on retrouve dans les expériences de v. Richter (1912) exactement les mêmes faits que nous avons obtenus :

1° La diminution relative d'activité des radiations violettes est nettement apparente ;

2° Il y a égalité ou augmentation de l'activité relative des radiations vertes chez les algues contenant de la phycoérythrine. Or l'égalité elle-même implique une intervention du pigment rouge. S'il n'accélérait l'assimilation en lumière verte, il abaisserait cette assimilation par le fait même de son absorption à la manière d'un écran.

53. **Phycoérythrine et pourpre rétinien.** — Chez les algues renfermant du pigment rouge le maximum de l'assimilation est donc déplacé de la région rouge vers la région verte du spectre ($\lambda = 570^{m}\mu$ environ). Reportons-nous maintenant à la courbe d'absorption de la phycoérythrine. Nous trouvons que la région verte est précisément le domaine d'absorption de ce pigment (492 — $569^{m}\mu$). On est donc fondé à penser que la phycoérythine agit comme un sensibilisateur et déplace le maximum de sensibilité du système assimilateur vers la région du spectre qui est précisément la plus intense dans le rayonnement solaire.

Un cas tout à fait comparable est celui du déplacement de la sensibilité maxima de la vision quand varient la valeur absolue de l'éclairement et la position de l'image sur la rétine. On sait qu'il faut distinguer dans la rétine l'appareil de vision diurne et l'appareil de vision crépusculaire. Ce dernier paraît constitué par le système des bâtonnets imprégnés de pourpre rétinien. Ces bâtonnets manquent au centre de la rétine. Ils interviennent pour les faibles éclairements et dans la vision périphérique. Or le pourpre rétinien, d'après A. Kœnig (1894) a son maximum d'absorption au voisinage de $500^{m}\mu$ et l'éclairement avec de faibles lumières a pour effet de porter le maximum de visibilité de $\lambda = 550^{m}\mu$ à $\lambda = 505^{m}\mu$, c'est-à-dire dans la région du spectre où le pourpre absorbe le plus fortement.

Cette analogie nous entraîne à admettre que la phycoérythrine a dans la photosynthèse exactement le même rôle physiologique que le pourpre dans la vision, c'est-à-dire constitue un sensibilisateur capable de permettre l'assimilation aux faibles éclairements.

54. **Observations sur les algues rouges.** — L'analogie entre le rôle de la phycoérythrine dans la photosynthèse et celui du pourpre rétinien dans la vision se trouve confirmée par les observations des algologues. L'étude des algues rouges dans la nature montre en effet que ces algues se rencontrent en général dans les endroits faiblement éclairés. On sait que leur distribution en profondeur les situe en général aux niveaux les plus bas ; c'est-à-dire où la lumière parvient nécessairement atté-

nuée. Diverses Cyanophycées rougissent quand elles vivent à une certaine profondeur.

Déjà Berthold (1882) avait signalé que d'une façon générale les algues vertes et brunes sont plus spécialement des formes adaptées à la lumière et les algues rouges des formes adaptées à l'ombre. Oltmanns (1905) et C. Sauvageau (1908) ont montré que ces dernières se rencontrent dans les excavations mal éclairées, les grottes étroites, à l'abri des rochers en surplomb.

Ces observations sont donc parfaitement cohérentes avec l'idée que nous nous faisons du rôle de la phycoérythrine, et qui diffère de l'idée que s'en était fait Engelmann, à la suite des expériences où il avait réussi à montrer le déplacement du maximum de l'assimilation chez des algues rouges. Sa théorie qui resta longtemps classique, reposait sur le fait que dans les profondeurs de la mer dominent les rayons bleus et verts, par suite de l'absorption sélective de l'eau ; selon Engelmann, les chromatophores des algues qui vivent à ces niveaux ont la couleur (rouge) complémentaire de la lumière qu'elles reçoivent. Cette idée de l'adaptation chromatique complémentaire fut précisée par Gaidukov (1902) à la suite de ses expériences sur les Oscillaires et parut rendre compte d'un certain nombre de faits (Nadson, 1901, Schorler, 1907, Dangeard, 1911). Elle fut combattue cependant par Oltmanns (1905) et C. Sauvageau (1908) qui firent remarquer que des algues à pigment rouge se trouvent aussi bien au voisinage de la surface qu'en profondeur pourvu qu'elles ne soient pas exposées à la lumière directe. Mais il faut remarquer avec Stahl (1909) que l'existence de formes rouges dans les endroits peu profonds mais abrités de la lumière directe n'est pas incompatible avec la théorie de l'adaptation chromatique. En effet la lumière diffuse qui pénètre dans les endroits abrités n'a pas la composition spectrale de la lumière directe, elle doit être plus riche en radiations réfrangibles, tout comme la lumière qui a traversé de grandes épaisseurs d'eau. Ici, comme toujours, l'observation ne peut suffire.

La théorie de Engelmann-Gaidukov doit être abandonnée pour deux raisons : B. Schindler (1913), dans un beau travail expérimental, a montré que les variations chromatiques des Oscillaires sont principalement sous la dépendance des conditions de nutri-

tion. D'autre part, nous venons de montrer (Tableau XXXII) que les radiations les plus réfrangibles produisent une assimilation très faible chez les Algues à pigment rouge. Si nous comparons l'effet de ce pigment à celui d'un sensibilisateur dans une plaque photographique, la phycoérythrine orthochromatise les chloroleucites pour la région verte du spectre. Les algues qui renferment ce pigment seraient favorisées par la lumière directe du soleil, et défavorisées par la lumière diffuse qui ne déterminerait chez elles qu'une très minime photosynthèse. Sur le terrain même de la lutte pour l'existence où s'étaient placés Engelmann et son élève Gaidukov, leur théorie de l'adaptation chromatique ne peut donc être défendue.

55. **Verdissement des Floridées.** — Certaines Floridées vivant normalement près de la surface de l'eau sont d'autant plus vertes qu'elles sont plus éclairées ; des espèces, qui ont une teinte rouge à leur niveau profond normal, verdissent quand elles s'égarent à un niveau plus élevé. L'étude de ces algues nous a permis (R. Wurmser et Mme J. Duclaux, 1920) de confirmer par des fait chimiques et physiologiques la conclusion que la phycoérythrine caractérise des formes vivant normalement à l'abri d'une lumière intense. En même temps, ces recherches précisent en quoi consiste le verdissement des algues rouges, ce qui est important pour l'étude, encore à faire, de la formation du pigment.

Nos expériences ont porté sur deux espèces, *Chondrus crispus* et *Rhodymenia palmata*, qui nous ont été indiquées par M. Sauvageau comme convenant particulièrement à notre recherche. Nous avons effectué deux groupes de déterminations :

1° Des comparaisons du pouvoir assimilateur des sortes rouges et vertes de chaque espèce ;

2° Des dosages des pigments renfermés par chacune de ces sortes.

1° Nous avons d'abord déterminé les vitesses d'assimilation de surfaces rigoureusement égales pour les sortes de *Rhodymenia* et aussi identiques que possible pour celles de *Chondrus*, le thalle de cette dernière espèce, très découpé, ne permettant pas une mesure aussi précise que celui de *Rhodymenia*. Des individus d'âge comparable, récoltés en place pendant une

même marée à Roscoff, étaient simultanément mis en expérience ; nous choisissions les plus rouges dans la zone de l'*Himanthalia Lorea*, au voisinage des Laminaires, et les plus verts parmi les *Fucus serratus*. Notre méthode a consisté à suivre selon la technique d'Osterhout et Haas, l'augmentation d'alcalinité de l'eau de mer additionnée de phénolphtaléine. Les mesures étaient effectuées en exposant en même temps, dans les mêmes conditions d'éclairement et de température, les thalles à comparer. Le tableau suivant donne, en valeurs relatives, les vitesses d'assimilation ; il montre que les individus riches en phycoérythrine assimilent toujours plus énergiquement que ceux qui en sont pauvres. Ce fait avait été signalé, à la suite d'essais qualitatifs sur *Furcellaria fastigiata* et *Chondrus crispus*, *par* Kolkwitz (1900).

TABLEAU XXXIII.

Rhodymenia palmata		*Chondrus crispus*	
Variété rouge	Variété verte	Variété rouge	Variété verte
100	43	100	17,8
100	27	100	25
100	25	100	20
100	57	100	33
100	33	100	33
100	15		

2° Parallèlement à ces mesures, nous avons effectué le dosage de la chlorophylle et des lipochromes (carotine + xanthophylle), en simplifiant le procédé de Willstætter et Stoll. Nous dosions sur un même extrait la chlorophylle et les lipochromes en profitant du fait que ceux-ci n'absorbent pas dans la région rouge où la chlorophylle à sa bande principale. L'emploi du spectrophotomètre évite ainsi une séparation. Pour doser les lipochromes, on éliminait, comme Wilestætter et Stoll, la chlorophylle par saponification. On pourrait séparer la carotine et la xanthophylle, comme font ces auteurs, par fractionnement, en utilisant la solubilité de la carotine dans l'éther de

pétrole et de la xanthophylle dans l'alcool méthylique. Mais pour le but que nous poursuivions, étant donné la grande similitude des spectres d'absorption de ces deux pigments nous nous sommes contentés de les doser en bloc en faisant des lectures spectrophotométriques au voisinage de $\lambda = 450^{m}\mu$.

Pratiquement on opère de la façon suivante :

On broie dans un mortier le fragment de thalle à étudier avec une petite quantité d'acétone à 40 0/0 (10 cm³ pour une surface de 3 cm²). On lave la pulpe avec de l'acétone à 35 0/0 sur filtre ordinaire. On reprend alors le résidu avec de l'acétone à 90 0/0 qui extrait les pigments jusqu'à épuisement de la pulpe, en employant environ 15 cm³ ; on termine en lavant avec un peu d'éther. La solution acétonique est mélangée avec deux fois son volume d'éther et quelques gouttes d'eau dans un petit entonnoir à boule. L'éther contenant les pigments se sépare de l'acétone qu'on élimine par lavage à l'eau distillée. On détermine sur la solution éthérique, dans la région rouge ($\lambda = 670^{m}\mu$) où les lipochromes n'ont pas de bandes, l'absorption due à la chlorophylle. On traite alors cette solution avec de la potasse en solution concentrée dans l'alcool méthylique ; les groupe-

TABLEAU XXXIV.

Variété rouge		Variété verte	
Chlorophylle	Lipochromes	Chlorophylle	Lipochromes
Rhodymenia palmata			
1,29	1,20	0,53	1,11
0,82	0,80	0,44	0,80
2,07	1,90	1,15	1,88
0,97	0,93	0,5	1,15
Chondrus crispus			
1,80	1,60	0,68	1,58
1,40	1,20	0,57	1,10
1,70	1,50	0,70	1,40

ments éthers de la chlorophylle sont saponifiés ; il se forme un sel tripotassique de chlorophylline soluble dans l'eau. On sépare la couche méthylique et on extrait par l'éther la petite quantité de xanthophylle qui est dissoute et que l'on réunit au reste de l'éther. Cet éther qui contient la totalité des lipochromes est lavé à l'eau distillée et au besoin saponifié à nouveau jusqu'à ce qu'il ne présente plus la bande ($\lambda = 670^{m}\mu$) de la chlorophylle. On fait alors une seconde mesure spectrophotométrique, cette fois à $\lambda = 450^{m}\mu$; l'absorption est due à la somme carotine + xanthophylle.

Si l'on désirait connaître les quantités absolues de pigments contenues dans les prises d'essai, il serait nécessaire de préparer des solutions de pigments purs. Mais il nous suffisait de déterminations comparatives.

Les chiffres ci-dessus indiquent les résultats des dosages. Pour chaque espèce, tous les chiffres situés sur une même horizontale se rapportent à une même surface (pour *Rhodymenia*) ou un même poids (pour *Chondrus*).

Le tableau XXXV permet la comparaison sur les valeurs moyennes des dosages.

TABLEAU XXXV.

	Rhodymenia palmata		*Chondrus crispus*	
	Variété rouge	Variété verte	Variété rouge	Variété verte
Chlorophylle	1,04	0,54	1,63	0.44
Lipochromes	1,20	1,23	1,43	1,36
Chlor. : Lip	0,86	0,43	1,14	0,32

Les individus rouges renferment donc plus de chlorophylle que les verts et ont sensiblement la même teneur en lipochromes. Le rapport $\frac{\text{chlorophylle}}{\text{lipochromes}}$ est normalement abaissé chez

les individus pauvres en phycoérythrine. On peut dire qu'il est anormalement abaissé chez ces derniers et non exagéré chez les autres par comparaison avec d'autres algues rouges et avec une algue verte : *Ulva lactuca*. Voici en effet les résultats de quelques déterminations :

TABLEAU XXXVI.

	Ulva lactuca	*Iridea edulis*	*Nitophyllum Hillix*
Chorophylle	0,57	1,60	0,67
Lipochromes	0,56	2,10	0,70
Chlor. : Lip.	1,01	0,76	0,95

Ces relations biochimiques mettent en évidence le fait que les formes vertes sont des formes chimiquement anormales. Elles semblent provenir des formes riches en phycoérythrine par effet photochimique direct de la lumière intense sur ce pigment. La chlorophylle est, elle aussi, plus rapidement oxydée et il s'établit un nouveau régime entre la vitesse de destruction et la vitesse de reconstitution, qui rapproche la teneur en chlorophylle de celle des algues ordinairement exposées à la lumière, telles que les Ulves. Cette hypothèse trouve sa confirmation dans l'existence de produits encore colorés, jaunes verdâtres, insolubles dans les solvants neutres, qui restent dans la pulpe épuisée et qu'on ne rencontre que dans les formes vertes. Ces produits sont vraisemblablement dus à la transformation incomplète de la chlorophylle. Ce sont eux aussi qui protègent les lipochromes contre une oxydation plus intense et contribuent à abaisser le rapport chlorophylle : lipochromes ; d'ailleurs, en solution au moins, et aux doses où ils existent dans les leucites, les lipochromes sont plus lentement détruits par la lumière du soleil que la chlorophylle elle-même.

La photooxydation rapide de la phycoérythrine explique le fait constaté par v. Richter (1912) et que j'ai vérifié, que les algues rouges assimilent relativement aux algues vertes beau-

coup plus énergiquement en lumière diffuse qu'en lumière intense.

Si les formes vertes des espèces que nous venons d'étudier sont chimiquement anormales, nous avons vu qu'elles l'étaient aussi physiologiquement, puisqu'elles assimilent très pauvrement par rapport aux formes rouges. La phycoérythrine caractérise donc les formes dont les échanges physiologiques normaux ont lieu à l'abri d'une lumière intense. De même le pourpre, chez les oiseaux, caractérise la rétine des espèces nocturnes.

56. **Conclusion.** — Le rôle de la phycoérythrine ne paraissant plus douteux, il convenait de se demander à quel temps du processus photosynthétique il pouvait intervenir. Nous savons d'une part que le pigment se trouve dans les chromatophores, d'autre part qu'il est de nature protéique. La facile séparation de la chlorophylle par les solvants parle contre une liaison intime des deux pigments. Or on sait que les sensibilisateurs n'agissent qu'autant qu'ils sont fixés sur le corps qu'ils sensibilisent. On est donc conduit à penser que le stroma du leucite est le siège de la transformation (réaction II de notre schéma) que la phycoérythrine accélère. Nous savions déjà que c'est au sein du stroma que se produit vraisemblablement l'acte essentiel de la photosynthèse : la réduction du gaz carbonique. L'étude de l'assimilation chez les algues rouges apporte donc en faveur de cette manière de voir un nouvel argument.

CONCLUSIONS

1° Le premier chapitre de ce travail comprend l'exposé d'une méthode qui permet d'étudier le mécanisme des actions de la lumière. Cette méthode est fondée sur l'existence d'une relation entre les propriétés absorbantes des corps et leur susceptibilité photochimique définie de la façon suivante : la vitesse v d'une transformation chimique, effectuée par un rayonnement dont la puissance incidente P_0 agit sur une couche infiniment mince de la substance photosensible a pour expression si la réaction est d'ordre n :

$$v = \sigma c^n P_0$$

c étant la concentration de la substance, et le coefficient σ, la susceptibilité photochimique de la réaction. La fréquence de la lumière pour laquelle la susceptibilité photochimique est maxima est la fréquence active de la réaction. Cette fréquence correspond généralement à un maximum d'absorption de la substance ou du groupement moléculaire photosensible. Il est donc possible, en combinant l'étude des vitesses de réaction et des constantes d'absorption en fonction de la longueur d'onde, de chercher quelles sont les substances qui entrent en réaction quand les procédés d'analyse chimique y sont impuissants. C'est le cas des actions biologiques de la lumière en général, celui de l'assimilation du carbone par les plantes vertes en particulier.

2° Le facteur qui règle la stabilité de la chlorophylle dans les leucites exposés à la lumière est l'oxygène. La présence des colloïdes cellulaires ralentit l'arrivée de l'oxygène jusqu'aux granules du pigment, et la teneur en eau plus ou moins grande de cette enveloppe protectrice rend compte des différences de stabilité de la chlorophylle chez les divers végétaux. Il résulte

de ces faits l'impossibilité d'admettre que le dégagement d'oxygène, pendant la photosynthèse ait lieu au contact même du pigment. On est ainsi conduit à une hypothèse cohérente avec ce que l'on sait actuellement sur le mécanisme de l'assimilation chlorophyllienne. La réduction du gaz carbonique a lieu vraisemblablement dans le stroma incolore des leucites, aux dépens de l'énergie libérée par une réaction photochimique qui se fait au niveau du pigment.

3° La seule modification chimique connue jusqu'ici, que l'on puisse observer sur la chlorophylle exposée à la lumière, est cette destruction par oxydation. Nous avons étudié la cinétique de cette réaction sur des solutions de pigment pur dans l'acétone, et cherché comment varie la susceptibilité photochimique en fonction de la longueur d'onde et de la constante d'absorption K. Nous avons trouvé que la susceptibilité photochimique varie avec λ d'une façon sensiblement proportionnelle à K, sauf au voisinage du minimum d'absorption où elle décroît plus rapidement. Les radiations, dont les fréquences correspondent aux deux bandes principales rouge et violette de la chlorophylle, sont, à énergie absorbée égale, également actives.

Incidemment ces recherches permettent d'établir que les lipochromes exercent une action protectrice négligeable vis-à-vis de la photooxydation de la chlorophylle.

4° La même étude a alors été entreprise sur l'assimilation du carbone. Nous avons fait ces recherches sur une algue verte qui se prête remarquablement à des déterminations quantitatives : *Ulva lactuca*. Leur résultat a été le suivant : le rendement (rapport de l'assimilation à la quantité d'énergie absorbée) est maximum dans la région verte qui est celle de moindre absorption. Ce fait, en apparence paradoxal, est au contraire aisément compréhensible dans l'hypothèse que nous avons adoptée ; la réaction photochimique qui se fait au niveau du pigment, n'est que le premier terme de l'assimilation. Les produits de la réaction doivent être transformés par le protoplasme. La vitesse de l'assimilation doit donc être d'autant plus grande que, pour une même quantité d'énergie absorbée, la masse active du protoplasme est plus grande : ce qui a lieu dans les régions où une couche relativement épaisse est nécessaire pour absorber cette énergie.

A énergie absorbée égale, les radiations violettes sont plus actives que les rouges, bien que les constantes d'absorption soient très voisines. Ce résultat très différent de celui obtenu (Ch. III) pour la photooxydation des solutions de chlorophylle montre que ce n'est pas cette oxydation qui règle la photosynthèse. La lumière agit sur une autre substance que la chlorophylle et ce pigment n'intervient dans la réaction qu'à la manière d'un sensibilisateur optique.

5° Les expériences faites avec *Rhodymenia palmata* montrent que cette algue rouge assimile dans la région verte du spectre plus énergiquement encore que les algues dépourvues de phycoérythrine.

On sait que les algues rouges se rencontrent dans les endroits faiblement éclairés. Il y a donc une analogie évidente entre le rôle physiologique de la phycoérythrine et celui du pourpre rétinien, agent de la sensibilisation rétinienne. Le pigment rouge des algues permet l'assimilation aux faibles intensités lumineuses.

L'étude comparative du pouvoir assimilateur et de la teneur en pigments de certaines espèces de Floridées existant sous deux sortes, l'une verte, pauvre en phycoérythrine, l'autre rouge, confirme que la présence de ce pigment caractérise les formes dont les échanges physiologiques normaux ont lieu en lumière atténuée. Les formes vertes sont des formes chimiquement anormales, plus pauvres, non seulement en phycoérythrine, mais en chlorophylle, que les formes rouges.

L'étude de l'assimilation chez les algues rouges apporte un argument nouveau à l'appui du rôle essentiel du protoplasme dans le phénomène de photosynthèse.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Abney (Capt.) [1881]. — Solar Physics. *Nature*, **25**, p. 162.

Arnaud [1889]. — Recherches sur la carotine ; son rôle physiologique probable dans la feuille. *C. R. Ac. Sc.*, **109**, p. 911.

Aubert (M.) [1892]. — Recherches physiologiques sur les plantes grasses. *Thèse*, Paris.

Bach (A.) [1893]. — Contribution à l'étude des phénomènes chimiques de l'assimilation de l'acide carbonique par les plantes à chlorophylle. *C. R. Ac. Sc.*, **116**, p. 1145.

Bach (A.) [1893]. — Sur le dédoublement de l'acide carbonique sous l'action de la radiation solaire. *Ibid.*, **116**, p. 1389.

Becquerel (Ed.) [1868]. — La lumière, ses causes et ses effets. Didot, Paris, **2**, p. 278.

Berthelot (D.) et Gaudechon [1910]. — Synthèse photochimique des hydrates de carbone aux dépens des éléments de l'anhydride carbonique et de la vapeur d'eau, en l'absence de chlorophylle ; synthèse photochimique des composés quaternaires. *C. R. Ac. Sc.*, **150**, p. 1690.

Berthold (G.) [1882]. — Mittheilungen aus der zoolog. Station zu Neapel, **3**, p. 415.

Bielecki (J.) et Wurmser (R.) [1912]. — Action des rayons ultra-violets sur l'amidon. *C. R. Ac. Sc.*, **154**, p. 1429.

Bielecki (J.) et Wurmser (R.) [1912]. — Uber die Wirkung ultra-violetter Strahlen auf Stärke. *Bioch. Zeitschr.*, **43**, p. 154.

Bierry (H.), Henri (V.) et Ranc (A.) [1910]. — Action des rayons ultra-violets sur certains hydrates de carbone. *C. R. Ac. Sc.*, **151**.

Blackman (F. F.) [1905]. — Optima and Limiting factors. *Ann. of. Bot.*, **19**, p. 281.

Blackman (F. F.) [1920]. — Communication verbale à la Société Royale de Londres. Séance du **4** mars.

Blackman (F. F.) et Smith (A. M.) [1911]. — Experimental Researches on Vegetable Assimilation and Respiration. IX. *Proc. Roy. Soc.*, B., **83**, p. 374 et 389.

Boll (M.) [1914]. — Recherches sur l'évolution photochimique des électrolytes. *Thèse*, Paris.

Bonnier (G.) et Mangin (L.) [1884]. — Recherches sur la respiration et la transpiration des champignons. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, série 6 ; **17**, p. 281.

Briggs (G. E.) [1920] — Experimental Researches on Vegetable Assimilation and Respiration XIII. *Proc. Roy. Soc.* B., **91**, p. 249.

Brown et Morris [1893]. — A Contribution to the Chemistry and Physiology of foliage leaves. *Journ. Chem. Soc. Trans.*, p. 604.

Cailletet (L.) [1868]. — De l'influence des divers rayons colorés sur la décomposition de l'acide carbonique par les plantes. *Ann. Ch. et Phys.*, série **4**, **14**, p. 325.

Chauchard (A.) [1920]. — Lois d'action des rayons ultra-violets sur les diastases. *Thèse*, Paris.

Chauchard (A.) et (Mme) [1913]. — Etude quantitative de l'action des rayons ultraviolets monochromatiques sur l'amylase. *C. R. Ac. Sc.*, **155**.

Cloez et Gratiolet [1851]. — Recherches expérimentales sur la végétation des plantes submergées. *Ann. chim. et phys.*, série 3, **32**, p. 214.

Dangeard (P.-A.) [1910]. — L'action de la lumière sur la chlorophylle. *C. R. Ac. Sc.*, **151**, p. 1386.

Dangeard (P.-A.) [1911]. — Sur la détermination des rayons actifs dans la synthèse chlorophyllienne. *C. R. Ac. Sc.*, **152**, p. 277.

Dangeard (P.-A.) [1911]. — Sur l'adaptation chromatique complémentaire chez les végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, **153**, p. 293.

Daubeny (Ch.) [1836]. — On the Action of Light upon Plants, and of Plants upon the Atmosphere. *Philos. Trans.*, p. 149.

Dehérain (P.) [1869]. — Sur l'évaporation de l'eau et la décomposition de l'acide carbonique par les feuilles des végétaux. *Ann. d. Sc. nat. Bot.*, série **5**, **12**, p. 5.

Dementiew (W.) [1876]. — Zur Frage über die Bildung und Zersetzung des Chlorophylls. *Just. Jahresber.*, **2**, p. 924.

Dhéré et de Rogowski [1912].— Sur l'absorption des rayons ultra-violets par les chlorophylles α et β. *C. R. Ac. Sc.*, **155**, p. 653.

Donath (B.) [1896]. — Bolometrische Untersuchungen über Absorptionsspectra fluorescirender Substanzen und ätherischer Oele. *Ann. d. Physik*, **58**, p. 609.

Downes (A.) et Blunt (T. P.) [1878].— On the influence of light upon protoplasm. *Proc. Roy. Soc.*, **28**, p. 199.

Draper [1844]. — Sur la décomposition du gaz acide carbonique et sur celle des carbonates alcalins par la lumière du soleil. *Ann. chim. et phys.*, série 3, **11**, p. 214.

Dubois (R.) [1890]. — Nouvelle théorie du mécanisme des sensations lumineuses. *Rev. gén. Sc. pures et appl.*, **1**, p. 198.

Duclaux (J.) [1919]. — Intervention de la chimie dans la théorie du rayonnement calorifique. *Bull. des séances de la Soc. de Physique*, 16 mai.

Eder (J. M.) [1885]. — Uber die Wirkung versch. Farbstoffe auf das Verhalten des Bromsilbers... *Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. Wien.*, **102**, 2ª Abth, p. 1346.

Eder (J. M.) [1906]. — Handbuch der Photographie. Halle a. S., 3e éd., **1**, 2e partie, p. 269.

Ehrlich (P.) [1885]. — Das Sauerstoff-Bedürfnis des Organismus. Berlin. Hirschwald.

Einstein (M.) [1913]. — Déduction thermodynamique de la loi d'équivalence photochimique. *Journ. de Physique*, **3**, p. 277.

Engelmann (Th. W.) [1882]. — Über Sauerstoffausscheidung im Mikrospektrum. *Bot. Ztg.*, **40**, p. 419.

Engelmann (Th. W.) [1883]. — Farbe und Assimilation. *Ibid.*, **41**, p. 1.

Engelmann (Th. W.) [1884]. — Untersuchungen über die quantitativ. Beziehungen zwischen Absorption des Licht und Assimilation in Pflanzenzellen. *Ibid.*, **42**, p. 81.

Engelmann (Th. W.) [1887]. — Die Farben bunter Laubblätter und ihre Bedeutung für die Zerlegung der Kohlensaure im Lichte. *Ibid.*, **45**.

Ewart (A. J.) [1895-1897]. — *Journ. of the Linn. Soc. Botany*, **31**. Cité par Willstätter et Stoll [1918].

Fauré-Frémiet (E.) [1913]. — Le Cycle germinatif chez l'*Ascaris megalocephala*. *Arch. Anat. microsc.*, **15**, p. 435.

Gaidukov (N.) [1902]. — Uber den Einfluss farbigen Lichtes auf die Färbung lebender Oscillarien. *Anhang zu den Abhandl. d. Kgl. Preuss. Akad. d. Wiss.*, p. 1.

Gaidukov (N.) [1903]. — Weitere Untersuchungen über den Einfluss... *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, **21**, p. 484.

Gerland [1871]. — Uber die Einwirkung des Lichtes auf das Chlorophyll. *Pogg. Ann.*, **143**, p. 585.

Grotthus [1818-1820]. — Abhandl. ueber Elektricität und Licht. Réédité dans les *Ostwald's Klassiker*, no **152** [1906].

Guilliermond (A.) [1919]. — Observations vitales sur le chondriome des végétaux, et recherches sur l'origine des chromoplastides et le mode de formation des pigments xanthophylliens et carotiniens *Rev. gén. de Botan.*, **31**, p. 372.

Hagenbach (Ed.) [1870]. — Untersuchung über die optischen Eigenschaften des Blattgrüns. *Pogg. Ann.*, **141**, p. 245.

Hansen (A.) [1893]. — Uber Stoffbildung bei den Meeresalgen. *Mitt. aus der Zool. Station zu Neapel*, **11**.

Henri (V.) et Bielecki (J.) [1912]. — Etude quantitative de l'absorption des rayons ultra-violets par les alcools, acides, éthers, aldéhydes et cétones de la série grasse. *C. R. Ac. Sc.*, **155**, p. 456.

Henri (V.) et Mme V. Henri [1912]. — Excitation des organismes par les rayons ultraviolets. *C. R. Soc. Bio*, **72**, p. 1083.

Henri (V.) et Larguier des Bancels (J.) [1914]. — Photochimie de la rétine. *Journ. Physiol. et Path. gén.*, p. 841.

Henri (V.) et Wurmser (R.) [1913]. — Loi d'absorption photochimique élémentaire. *C. R. Ac. Sc.*, **156**, p. 230.

Henri (V.) et Wurmser (R.) [1913]. — Absorption des rayons ultra-violets et action photochimique. *Journ. de Physique*, **3**, p. 305.

HENRI (V.) et WURMSER (R.) [1913]. — Action des rayons ultra-violets sur l'eau oxygénée. *C. R. Ac. Sc.*, **157**, p. 126.

HERCHFINKEL (H.) [1909]. — Décomposition du gaz carbonique par les rayons α et U. V. *Radium*, **6**, p. 229.

HERLITZKA (A.) [1912]. — Uber den Zustand des Chlorophylls in der Pflanze und uber Kolloïdales Chlorophyll. *Bioch. Zeitschr.*, **38**, p. 321.

INGENHOUSZ (J.) [1780]. — Expériences sur les végétaux. Paris.

IRVING (A. A.) [1910]. — The Beginning of Photosynthesis and the Development of Chlorophyll. *Ann. of. Bot.*, **24**, p. 805.

IWANOWSKI (D.) [1913]. — Uber die Rolle der gelben Pigmente in den Chloroplasten. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, p. 613.

IWANOWSKI (D.) [1913]. — Uber das Verhalten des lebenden Chlorophylls zum Lichte. *Ibid.*, p. 600.

IWANOWSKI (D.) [1913]. — Kolloïdales Chlorophyll und die Verschiebung der Absorptionsbänder in lebenden Pflanzenblättern. *Bioch. Zeitschr.*, **48**, p. 328.

JAMIN [1869]. — Cours de physique, **3**.

JŒRGENSEN (I.) et STILES (W.) [1919]. — L'état actuel du problème de l'assimilation du carbone. *Scientia*, **25**.

KNIEP (H.) et MINDER (L.) [1909]. — Uber den Einfluss verschiedenfarbigen Lichtes auf die Kohlensaureassimilation. *Zeitschr. f. Bot.*, **1**, p. 619.

KOHL (F. G.) [1897]. — Die assimilatorische Energie der blauen und violetten Strahlen des Spektrums. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, **15**, p. 111.

KOHL (F. G.) [1897]. — Die assimilatorische Energie des blauen Lichts. *Ibid.*, p. 361.

KOHL [1906]. — Kohlensaureassimilation und Chlorophyllfunction. *Ibid.*, Generalvers. Heft, p. 43.

KOHL (F. G.) [1906]. — Die assimilatorische Funktion des Karotins u. d. zweite Assimilations maximum. *Ibid.*, **24**, p. 222.

KOLKWITZ (R.) [1900]. — Beiträge zur Biologie der Florideen. *Wiss. Meeresunters.* (*Kiel u. Heligoland*). Neue Folge, **4**, Heft 1, p. 56.

KÖNIG (A.) [1894]. — Uber den menschlichen Sehpurpur und seine Bedeutung für das Sehen. *Ber. Berl. Akad.*

KÜSTER (W.) [1920]. — Uber die Bindung des Eisens in der prosthetischen Gruppe des Blutfarbstoffs und die Konstitution derselben. *Zeitschr. f. physiol. Ch.*, **110**, p. 93.

KÜTZING (Fr. T.) [1843]. — Phycologia generalis. Leipzig.

KYLIN (H.) [1910]. — Uber Phykœrythrin und Phykocyan bei *Ceramium rubrum*. *Zeitschr. f. physiol. Ch*, **69**, p. 169.

LANGLEY [1882]. — La distribution de l'énergie dans le spectre normal. *Ann. de Chim. et de phys.*, série 5, **25**, p. 212.

LAZAREFF (L.) [1907]. — Uber das Ausbleichen von Farbstoffen im sicht. Spektrum. *Ann. d. Physik*, **24**, p. 661.

LIEBALDT (E.) [1913]. — Uber die Wirkung wässeriger Lœsungen oberflächenaktiver Substanzen auf die Chlorophyllkörner. *Zeitschr. f. Bot.*, **5**, p. 65.

Löb (W.) [1905]. — Zur Kenntniss der Assimilation der Kohlensäure. *Zeitschr. f. Elektroch.*, **11**, p. 745.

Löb (W.) [1906]. — Studien über die chem. Wirkung der stillen elektrischen Entladung. *Ibid.*, **12**, p. 282.

Lœb (J.) [1906]. — The Dynamics of Living Matter. New-York.

Lommel (E.) [1871]. — Uber das Verhalten des Chlorophylls zum Licht. *Pogg. Ann.*, **143**, p. 568.

Lubimenko (W. N.) [1908]. — Production de la substance sèche et de la chlorophylle. *Ann. Sc. nat. Bot.*, **7**, p. 321.

Mac Dougal et Spœhr [1920]. — Colloïdal behavior of plant protoplasm. *Proc. of the Amer. Philos. Soc.*, Philadelphie, **59**, p. 150.

Mac Lewis (C.) [1919]. — Le rayonnement, facteur fondamental de toute transformation chimique. *Scientia*, **25**, p. 450.

Molisch (H.) [1894]. — Das Phykoerythrin, seine Kristallisibarkeit und chem. Natur. *Bot. Ztg.*, **52**.

Molisch (H.) [1905]. — Zur Lehre von der Kohlensäureass. im Chlorophyllkorn. *Congrès intern. de botanique*. Vienne, p. 182.

Moore (B.) [1914]. — The presence of inorganic iron compounds in the chloroplasts of the green cells of plants considered in relationship to natural photosynthesis... *Proc. Roy. Soc.*, B., **87**, p. 556.

Moore et Webster (T. A.) [1913]. — Synthesis of Formaldehyde from Carbon dioxide and Water by Inorganic Colloids, acting as Transformers of Light Energy. *Proc. Roy. Soc.*, B., **87**, p. 163.

Monteverde et Lubimenko (W. N.) [1913]. — Sur la formation de la chlorophylle chez les Plantes. Cité par Guilliermond [1919].

Müller (N. J. C.) [1872]. — Untersuchungen über die Sauerstoffauscheidung grünen Pflanzen in Sonnenlicht. *Bot. Untersuch.* Heidelberg, **1**, p. 3.

Nadson (G.) [1901]. — Die perforierenden (Kalkbohrenden) Algen und ihre Bedeutung in der Natur. *Scripta Bot. Horti Univ. Imp. Petrop.*, **17**, p. 35.

Nencki (M.) et Marchlewski (L.) [1901]. — Zur Chemie des Chlorophylls. Abbau des Phyllocyanins zum Hämopyrrol. *Ber. d. deutsch. Chem. Ges.*, **34**, p. 1687.

Osterhout (W. J. V.) et Haas (A. R. C.) [1918]. — On the dynamics of photosynthesis. *Journ. of gen. Physiol.*, **1**, p. 1.

Oltmanns (Fr.) [1892]. — Uber die Kultur und Lebensbedingungen der Meeresalgen. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, **23**, p. 409.

Oltmanns (Fr.) [1905]. — Morphologie und Biologie der Algen, **2**.

Palmer (Leroy S.) et Eckles (C. H.) [1914]. — Carotin. The principal natural yellow pigment of milkfat : Its relation to plant carotin... *Journ. of biol. Chem.*, **17**, p. 191.

Pantanelli (E.) [1903]. — Abhängigkeit der Sauerstoffausscheidung belichteter Pflanzen von ausseren Bedingungen. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, **39**, p. 167.

Perrin (J.) [1919]. — Matière et Lumière : essai de synthèse de la mécanique chimique. *Ann. de Physique.*

Pfeffer (W.) [1871]. — Die Wirkung farbigen Lichtes auf die Zersetzung der Kohlensäure in Pflanzen. *Archiv. d. bot. Inst. Würzburg.*, 1, p. 1.

Pfeffer (W.) [1872]. — Die Wirkung der Spektralfarben auf die Kohlensäurezersetzung in Pflanzen. *Botan. Ztg*, p. 425.

Pfeffer (W.) [1897]. — Pflanzenphysiologie, 1, p. 318, 335.

Priestley (J.) [1774]. — Experiments and Observations on different Kinds of Air. London. J. Johnson, p. 89.

Priestley (J. H.) et Irving (Annie A.) [1907]. — The structure of the Chloroplast considered in relation to its Function. *Ann. of Bot.*, 21, p. 407.

Prillieux (Ed.) [1869]. — De l'influence qu'exerce l'intensité de la lumière colorée sur la quantité de gaz que dégagent les plantes submergées. *Ann. sc. nat. Bot.*, série 5, 10, p. 305.

Pringsheim (N.) [1881]. — Untersuchungen über Lichtwirkung und Chlorophyllfunction in der Pflanze. Leipzig.

Pringsheim (N.) [1887]. — Uber die Abhängigkeit der Assimilation grüner Zellen von ihrer Sauerstoffathmung, und der Ort, wo der im Assimilations acte der Pflanzenzelle gebildete Sauerstoff entsteht. *Sitzungsber. d. Kön. Preuss. Akad. d. Wiss.*, 38.

Ranc (A.) [1914]. — Contribution à l'étude des actions physiologiques de la lumière. Paris.

Reinke (J.) [1883]. — Untersuchungen über d. Einwirkung des Lichtes auf die Sauerstoffausscheidung der Pflanzen. *Bot. Ztg.*, p. 697.

Reinke (J.) [1884]. — *Ibid.*, p. 1.

Reinke (J.) [1885]. — Die Zerstörung von Chlorophyllösungen durch das Licht und eine neue Methode zur Erzeugung des Normalspektrums. *Ibid.*, p. 49, 81, 97, 113, 129.

Richter (v.) [1912]. — Farbe und Assimilation. *Ber. d. deutsch. bot. Ges*, p. 280.

Sachs (J.) [1864]. — Wirkungen farbigen Lichtes auf Pflanzen. *Bot. Ztg.*, p. 353.

Sachs (J.) [1872]. — Die Pflanze und das Auge als versch. Reagenten für das Licht. *Würz. Arbeit*, 1, p. 276.

Saussure (Th. de) [1804]. — Recherches chimiques sur la végétation. Paris.

Sauvageau (C.) [1908]. — Sur des Myxophycées roses et sur un procédé d'étude de la Phycocyane. *C. R. Soc. Biol.*, p. 95.

Sauvageau (C.) [1908]. — Sur la coloration des Floridées. *Ibid.*, 64, p. 103.

Scheppard (S.-E.) [1909]. — On the Influence of their state in solution on the Absorption Spectra of Dissolved Dyes. *Proc. Roy. Soc.*, A., 82, p. 256.

Schindler (B.) [1913]. — Uber den Farbenwechsel der Oscillarien. *Zeitschr. f. Bot.*, p. 497.

Schorler [1907]. — Komplementäre Anpassung der Organismen der Schwarzwasserteiche. Dresden. *Verh. Deutsch. Naturforsch. u. Arzte*, 2, p. 237.

Schunck (Ed.) et Marchlewski (L.) [1896]. — Contribution to the Chemistry of Chlorophyll. Phylloporphyrin and Hæmatoporphyrin : a Comparison. *Proc. Roy. Soc.*, 59, p. 233.

Senebier (J.) [1782]. — Mémoires physico-chimiques sur l'influence de la lumière solaire, etc. Genève.

Senebier [1788]. — Expériences sur l'action de la lumière solaire dans la végétation. Genève.

Stahl (E.) [1909]. — Zur Biologie des Chlorophylls. Fischer. Iéna.

Stokes (G.-G.) [1864]. — On the Supposed Identity of Biliverdin with Chlorophyll, with remarks on the Constitution of Chlorophyll. *Proc. Roy. Soc.*, **13**, p. 144.

Stokes (G.-G.) [1892]. — On light. London. Macmillan and Co.

Stoklasa (J.) et Zdobnicky (W.) [1911]. — Photochemische Synthese der Kohlenhydrate aus Kohlensaüreanhydrid und Wasserstoff in Abwesenheit von Chlorophyll. *Bioch. Zeitschr.*, **30**, p. 433.

Tian [1915]. — Transformation et équilibre chimiques de l'eau et des solutions de peroxyde d'hydrogène à la lumière ultra-violette. Thèse. Paris.

Timiriazeff (C.) [1869]. — Uber die relative Bedeutung von Lichtstrahlen verschiedener Brechbarkeit bei der Kohlensaürezersetzung in Pflanzen. *Bot. Ztg.* **27**, p. 168.

Timiriazeff (C.) [1875]. — Assimilation de la lumière par la plante. Saint-Pétersbourg.

Timiriazeff (C.) [1877]. — Recherches sur la décomposition de l'acide carbonique dans le spectre solaire des végétaux. *Ann. chim. et phys*, série 5, **12**, p. 355.

Timiriazeff (C.) [1885]. — Etat actuel de nos connaissances sur la fonction chlorophyllienne. *Ann. Sc. Nat. Bot*, série 8, p. 99.

Timiriazeff [1885]. — Von welchen Strahlen hängt die Kohlensaurezersetzung in der Pflanze ab ? *Just. Jahresber.*, **1**, p. 21.

Tswett (M.) [1906.]— Adsorptionsanalyse und Chromatographische Methode : Anwendung auf die Chemie des Chlorophylls. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, **24**, p. 384.

Urbain (G.) [1919]. — Cours professé à la Sorbonne.

Ursprung (A.) [1918]. — Uber die Absorptionskurve des grünen Farbstoffes lebender Blätter. *Ber. d. deutsch. bot. Ges*, **36**, p. 73.

Ursprung (A.) [1918]. — Uber die Bedeutung der Wellenlänge für die Stärkebildung. *Ibid.*, p. 86.

Usher (F. L.) et Priestley (J. H.) [1906]. — A Study of the Mecanism of Carbon Assimilation in Green Plants. *Proc. Roy. Soc.*, B., **77**, p. 369.

Usher (F. L.) et Priestley (J. H.) [1906]. — The Mecanism of Carbon Assimilation in green Plants : the Photolytic Decomposition of Carbon Dioxide in vitro. *Ibid.*, p. 318.

Usher (F. L.) et Priestley (J. H.) [1914]. — The Mecanism of Carbon Assimilation. Part. III. *Ibid.*, **84**, p. 101.

Van Gulik (D.) [1915]. — Uber das Absorptionsspektrum des Chlorophylls. *Ann. d. Physik*, **46**, p. 147.

Vlès (F.) [1919]. — Remarques sur la constitution sériale des spectres d'absorption. *C. R. Ac. Sc.*, **168**, p. 1044.

Vogel (H. W.) [1885]. — Uber den Zusammenhang zwischen Absorption der Farbstoffe und deren sensibilisierender Wirkung auf Bromsilber. *Wied. Ann.*, **26**, p. 527.

Wager (H.) [1914]. — The action of light on Chlorophyll. *Proc. Roy. Soc.*, B., **87**, p. 386.

Wiesner (J.) [1874]. — Welche Strahlen des Lichtes zerlegen bei Sauerstoffzutritt das Chlorophyll ? *Pogg. Ann.*, **152**, p. 496.

Wiesner (J.) [1874]. — Untersuchungen über d. Beziehung des Lichtes zum Chlorophylle. *Sitzungsber. Wien. Akad.*, p. 327.

Wiesner (J.) [1876]. — Die naturlichen Einrichtungen zum Schutze des Chlorophylls in den lebenden Pflanzen.

Willstætter (R.) [1906]. — Zur Kenntnis der Zusammensetzung des Chlorophylls. *Ann. d. Chem.*, **350**, p. 48.

Willstætter (R.) et Hug (E.) [1911]. — Isolierung des Chlorophylls. *Ann. d. Chem.*, **380**, p. 177.

Willstætter (R.) et Stoll (A.) [1913]. — Untersuchungen über Chlorophyll. Springer. Berlin.

Willstætter (R.) et Stoll [1918]. — Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Springer. Berlin.

Wurmser (R.) [1920]. — Action sur la chlorophylle des radiations de différentes longueurs d'onde. *C. R. Ac. Sc.*, **170**, p. 1640.

Wurmser (R.) [1920]. — L'action de la lumière sur la chlorophylle colloïdale en présence de stabilisateurs. *C. R. Soc. Biol.*, **83**, p. 437.

Wurmser (R.) [1920]. — Action des radiations de différentes longueurs d'onde sur l'assimilation chlorophyllienne. *C. R. Ac. Sc*, **171**, p. 820.

Wurmser (R.) et Mme J. Duclaux [1920]. — Sur la photosynthèse chez les Algues Floridées. *C. R. Ac. Sc.*, **171**, p. 1231.

Zsigmondy (R.) [1917]. — The Chemistry of Colloids. Trad. amer. New-York, p. 106.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION 1

CHAPITRE PREMIER. — **Détermination dans un mélange des corps sensibles à la lumière.**

1. Matière et rayonnement 4
2. Définition de la susceptibilité photochimique 5
3. La loi qualitative d'absorption photochimique (GROTTHUS). . . 5
4. Etude quantitative de l'absorption photochimique 7
5. Résultats expérimentaux. 8
6. Recherche des corps photosensibles dans un mélange absorbant. 13
7. Cas des sensibilisateurs 14
8. Application à l'étude des effets biologiques de la lumière . . . 15

CHAPITRE II. — **Photooxydation de la chlorophylle.**

9. Chimie de la chlorophylle 18
10. Action de la lumière sur la chlorophylle 20
11. Etat colloïdal de la chlorophylle dans les leucites 21
12. Préparation de chlorophylle pure 22
13. Marche des expériences 24
14. Action de la gélatine. 24
15. Action d'autres colloïdes. 26
16. Mécanisme de l'effet protecteur. 27
17. Action de l'oxygène sur la décoloration de la chlorophylle . . 28
18. Protection de la chlorophylle contre les acides 29
19. Protection de la chlorophylle dans les leucites 30
20. Sur le mécanisme de l'assimilation 32

CHAPITRE III. — **Action des radiations de différentes longueurs d'onde sur la chlorophylle.**

21. Travaux antérieurs 36
22. La solution acétonique 38
23. Variations du spectre d'absorption des solutions de chlorophylle exposées à la lumière 40

Pages

24. Variations du spectre de la chlorophylle à l'obscurité 42
25. Loi de Beer. 43
26. Choix des sources de lumière 44
27. Préparation des écrans 44
28. Détermination de la vitesse de décoloration 45
29. Marche de la réaction en lumière rouge 46
30. Marche de la réaction en lumière violette 47
31. Proportionnalité à la puissance incidente. 47
32. Comparaison de l'action des lumières rouge, verte et violette . 48
33. Méthode de mesure de l'énergie absorbée. 49
34. Variation de la susceptibilité avec la longueur d'onde 50
35. La décoloration dans les leucites 50
36. L'action protectrice des lipochromes. 51

Chapitre IV. — **Action des radiations de différentes longueurs d'onde sur l'assimilation chlorophyllienne.**

37. Principe de la recherche. 57
38. Résultats des travaux antérieurs 58
39. Schéma des expériences 61
40. Descriptions des écrans 62
41. Mesure de la vitesse d'assimilation. 63
42. Mesure de l'énergie incidente 65
43. Détermination du spectre d'absorption de la chlorophylle dans les leucites 66
44. Marche des expériences 72
45. Assimilation et énergie incidente 74
46. Le maximum d'Engelmann 75
47. Détermination de l'énergie absorbée 75
48. Assimilation et énergie absorbée. 77

Chapitre V. — **L'assimilation chez les Algues rouges.**

49. La phycoérythrine. 85
50. Expérience d'Engelmann 86
51. Dispositif expérimental 86
52. Résultats 87
53. Phycoérythrine et pourpre rétinien 89
54. Observations sur les Algues rouges. 89
55. Verdissement des Floridées 91
56. Conclusion 96

Conclusions 97

Index bibliographique 100

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

1° **Le travail du Muscle.**

2° **Rôle des microorganismes dans l'élaboration de certains éléments des roches.**

VU ET APPROUVÉ :
Strasbourg, le 21 avril 1921.
Le Doyen de la Faculté des Sciences,
E. BATAILLON.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Strasbourg, le 22 avril 1921.
Le Recteur de l'Académie de Strasbourg,
Signé : S. CHARLÉTY.

LAVAL. — IMPRIMERIE L. BARNÉOUD ET C^ie^.